

Airasca, Ana Lía

Biología de las plaquetas: características funcionales y estructurales. Volumen plaquetario medio en diferentes procesos proinflamatorios

**Tesis para la obtención del título de posgrado de
Especialista en Bioquímica Clínica: Área
Hematología**

Directora: Fassetta, María Fernanda

Documento disponible para su consulta y descarga en Biblioteca Digital - Producción Académica, repositorio institucional de la Universidad Católica de Córdoba, gestionado por el Sistema de Bibliotecas de la UCC.



Esta obra está bajo licencia 2.5 de Creative Commons Argentina.
Atribución-No comercial-Sin obras derivadas 2.5

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA

Facultad de Ciencias Químicas



“BIOLOGÍA DE LAS PLAQUETAS: CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES Y ESTRUCTURALES. VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO EN DIFERENTES PROCESOS PROINFLAMATORIOS”

Trabajo Final de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Católica de Córdoba, conforme a los requisitos para obtener el título de Especialista en Bioquímica Clínica: Área Hematología.

Por:

Bioquímica Ana Lía Airasca

Córdoba, Argentina

2020

Director del Trabajo Final

Bioq. Esp. María Fernanda, Fassetta

Hospital Regional J.B. Iturraspe - San Francisco (Cba.)

Clínica de Especialidades Enrique J. Carrá - San Francisco (Cba.)

Comisión de Trabajo Final

Bioq. Esp. María Cecilia Moyano

Bioq. Esp. María Angélica Molina

Bioq. Esp. Verónica Arrieta

Director de la carrera

Dr. Miguel Orsilles

Facultad de Ciencias Químicas, UCC

AGRADECIMIENTOS

Al Director de la Carrera de Especialización en Bioquímica Clínica: Área Hematología, Dr. Miguel Orsilles y a todos los docentes de la carrera por su dedicación.

A los miembros del tribunal evaluador por las sugerencias realizadas en la redacción del presente trabajo.

A mi Directora de Trabajo Final, Bioq. Esp. María Fernanda Fassetta, quien me acompañó y alentó durante el largo camino que resultó la realización del presente trabajo, sin su apoyo nada hubiera sido posible.

ÍNDICE GENERAL

Lista de Abreviaturas	viii
Índice de Tablas	xi
Índice de Figuras	xii
Resumen	xiii

PARTE I: Biología de las plaquetas: Características funcionales y estructurales

1. Introducción	1
2. Megacariopoyesis	2
2.1. Megacariopoyesis dependiente de trombopoyetina	5
3. Estructura y función de las plaquetas	6
4. El papel de las plaquetas en la hemostasia	10
4.1 Adhesión plaquetaria	10
4.2 Agregación y secreción plaquetarias	11
5. Función plaquetaria y su relación con el tamaño	12
6. Factores genéticos relacionados con el recuento y volumen de plaquetas	13
7. Estudios de asociación genética y su contribución al VPM	16

PARTE II: VPM en diferentes procesos proinflamatorios

8. Recuento de plaquetas y medición del VPM	19
9. Aspectos técnicos de la medición del VPM y otros índices plaquetarios	21
9.1 Toma de muestra	22
9.2 Consideraciones de los anticoagulantes	22
9.3 Conservación de la muestra	23
9.4 Otros índices plaquetarios	23

10. Utilidad e interpretación clínica del VPM en distintas patologías	24
11. Correlación entre el recuento plaquetario y el VPM	25
12. Comportamiento del VPM en diversos escenarios clínicos	26
12.1. Síndrome metabólico, obesidad y diabetes mellitus	26
12.2. Enfermedades proinflamatorias y protrombóticas	28
12.3. Variación del VPM en procesos inflamatorios	30
12.4. Trastornos autoinmunes	32
12.5. Anemia falciforme	35
12.6. Enfermedades inflamatorias e infecciosas	36
12.7. Sepsis	37
12.8. Cardiopatía isquémica	41
12.9. Cáncer	44
13. Conclusión	49
14. Bibliografía	51

LISTA DE ABREVIATURAS

ACV: accidente cerebro vascular

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADP: adenosín difosfato

AR: artritis reumatoidea

ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero

ATP: adenosin trifosfato

BFU-Meg: unidad formadora de brotes de megacariocitos

CATS: Vienna Cáncer and Trombosis Study

CD40 L: ligando de CD40

CFU-Meg: unidad formadora de colonias de megacariocitos

CID: coagulación intravascular diseminada

CLEC-2: receptor de tipo lectina C-2

CPM: componente medio plaquetario

DAS28: puntuación de la actividad del dolor de las 28 articulaciones

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

DNM3: proteína Dynamin 3

EA: espondilitis anquilosante

EB: enfermedad de Behcet

EC: enfermedad de Crohn

EDTA: ácido etilenaminotetracético

ETV: enfermedad tromboembólica venosa

FA: fibrilación auricular

FGF2: factor de crecimiento fibroblástico 2

FGF4: factor de crecimiento fibroblástico 4

fl: femtolitros

FMF: fiebre mediterránea familiar

FP4: Factor plaquetario 4

FPI: fracción de plaquetas inmaduras

FVW: factor de von Willebrand

Gly: glicógeno

GP6: Glucoproteína VI

GPIb: Glucoproteína Ib

GPIIa: Glucoproteína IIa

GPIIb: Glucoproteína IIb

GPIIIa: Glucoproteína IIIa

GPIX: Glucoproteína IX

GWAS: estudio de asociación de genoma completo

HbA1c: Hemoglobina Glicosilada

IAM: infarto agudo de miocardio

IL 1: interleuquina 1

IL 6: interleuquina 6

IL11: interleuquina 11

IL12: interleuquina 12

JAK2: Janus cinasa 2

LDL: colesterol LDL

LES: lupus eritematoso sistémico

µm: micrómetros

mmol: milimoles

MPPs: micropartículas derivadas de plaquetas

NETs: trampas extracelulares de neutrófilos

OCS: canales del sistema canalicular abierto conectado a la superficie

PCR: proteína C reactiva

PCT: plaquetocrito

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas

PDW: ancho de distribución del volumen plaquetario

PEM: Célula madre bipotencial

PEM: progenitores eritroides/megacariocíticos

PGM: progenitores granulocito/monocítico)

PI3K: fosfoinositol 3 cinasa

PLC: progenitor linfoide común

P-LCR: rango de plaquetas mayores a 12 fl

PMC: progenitor mieloide común

PR: plaqueta reticulada

PTI: púrpura trombocitopenica inmune

SAF: síndrome antifosfolípido

SCA: Síndrome coronario agudo

SDF1: factor-1 derivado del estroma

SNP: polimorfismo de nucleótido único

TEV: tromboembolismo venoso

TGF β : Factor de crecimiento transformante β

TLRs: receptor Toll like

TNF: factor de necrosis tumoral

TnT: troponina T

TPO: trombopoyetina

TXA2: tromboxano A2

TXB2: tromboxano B2

VPM: volumen plaquetario medio

VSG: velocidad de sedimentación globular

WES: conjunto de secuenciación del exoma

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Valores publicados de VPM en pacientes con DM tipo 2 con diferentes niveles de HbA1C	27
Tabla II. Valores publicados de VPM en pacientes con DM tipo 2	28
Tabla III. Valores publicados de VPM en pacientes con LES	33
Tabla IV. Valores publicados de VPM en pacientes con AR	34
Tabla V. Valores publicados de VPM en pacientes con Anemia falciforme	36
Tabla VI. Valores publicados de VPM en pacientes con EC	36
Tabla VII. Valores publicados de VPM en pacientes con EA	37
Tabla VIII. Valores publicados de VPM en pacientes con EC	37
Tabla IX. Valores publicados de VPM en pacientes con sepsis neonatal	39
Tabla X. Valores publicados de VPM en pacientes con sepsis	41
Tabla XI. Valores publicados de VPM en pacientes con SCA	42
Tabla XII. Valores publicados de VPM en pacientes con IAM	42
Tabla XIII. Valores publicados de VPM en pacientes con Cáncer	46
Tabla XIV. Valores publicados de VPM en pacientes con diferentes tipos de tumores	47

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Citocinas y quimiocinas más importantes que activan el proceso de maduración y diferenciación de los megacariocitos	4
Figura 2. Plaquetas discoides	7
Figura 3. Sistemas agonistas, receptores y efectores en la activación plaquetaria	12
Figura 4. Conexiones entre genoma significativo	15
Figura 5. Se muestran los dos SNPs y su relación con la transcripción del DNMT3 y el VPM	18
Figura 6. Secreción plaquetaria en la aterosclerosis	30
Figura 7. Posibles factores que afectan el tamaño de las plaquetas y su asociación con trombosis e inflamación	31

Resumen

El volumen plaquetario medio es un marcador de inflamación, trombosis y disfunción endotelial que ha adquirido importancia en relación a su significado en enfermedades que tienen como sustrato un componente inmunoinflamatorio y protrombótico. La intensidad de la inflamación sistémica puede ser vista como un factor distintivo para la clasificación de las condiciones asociadas con grandes y pequeñas plaquetas circulantes. Se ha acumulado evidencia que sugiere el papel importante del volumen plaquetario medio como un marcador de la inflamación, actividad de la enfermedad y la eficacia del tratamiento anti-inflamatorio en varios trastornos inflamatorios crónicos.

En la actualidad es un parámetro suministrado rutinariamente por un autoanализador hematológico, que se correlaciona con el recuento, la función plaquetaria y la activación. También aporta datos sobre la función de las plaquetas, que es central en los procesos que están implicados en la fisiopatología de la enfermedad cardíaca coronaria y la disfunción endotelial. El volumen plaquetario medio se relacionó a diabetes mellitus, enfermedad arterial periférica, fibrilación auricular, antecedentes quirúrgicos, trauma, inmovilización, medicamentos como terapia anticoagulante, estatinas y otras disfunciones de las plaquetas. Por otro lado, la inflamación juega un papel importante en la patogénesis de muchas enfermedades como la espondilitis anquilosante, Enfermedad de Behcet, Enfermedad de Crohn y enfermedades reumáticas.

Parte de este trabajo fue realizar una recopilación de los diferentes autores expresando en forma de tabla los valores de volumen plaquetario medio de diferentes patologías, permitiendo a los profesionales poder interpretar las variaciones que se observan y aplicarlo así en la práctica clínica.

La implementación del volumen plaquetario medio, junto con otros marcadores inflamatorios, puede ser de gran utilidad en la evaluación clínica de los pacientes con factores de riesgo, ya que es un parámetro hematológico de bajo costo, pudiendo ser una herramienta útil para el médico en el diagnóstico, seguimiento y tratamiento del paciente. Para que esto suceda, es fundamental llegar a la estandarización de la

medición y seguramente alcanzar esta meta aumentará la utilidad de la evaluación del volumen de las plaquetas.

Palabras clave: plaquetas, volumen plaquetario, trombosis, inflamación.

PARTE I: Biología de las plaquetas: Características funcionales y estructurales

1. Introducción

Más allá de la hemostasia, las plaquetas han surgido como efectores versátiles de la respuesta inmune. La contribución de las plaquetas en la inflamación, la integridad del tejido y la defensa contra las infecciones ha ampliado considerablemente el espectro de su papel en la salud y la enfermedad (1,2).

Las plaquetas desempeñan un papel importante en la patogénesis de diversos trastornos infecciosos o inflamatorios (3). El recuento de plaquetas y el volumen plaquetario medio (VPM) han sido estudiado como marcadores inflamatorios en relación con la actividad de la enfermedad. El VPM puede aumentar en la inflamación leve debido a la aparición de plaquetas grandes en circulación periférica y, a la inversa, puede disminuir en la inflamación severa debido al consumo de grandes plaquetas en el área inflamatoria (3). La activación plaquetaria es un vínculo en la fisiopatología de las enfermedades propensas a la trombosis y la inflamación (1-4). Numerosos marcadores de plaquetas, incluido el VPM, se han estudiado en relación con la trombosis y la inflamación. La respuesta fisiológica inicial hacia el desarrollo de tapones hemostáticos o coágulos de sangre abarca un cambio en la forma de las plaquetas de discoide a esférico, una extrusión de pseudópodos y una modificación de volumen (4).

Es importante destacar que la activación plaquetaria se asocia con una rápida reorganización intracelular de la actina y los componentes de microtúbulos del citoesqueleto, que produce una mejora considerable del área de superficie de las plaquetas reflejada por un aumento paralelo en el VPM (5). Varias líneas de investigación sugieren que existe una asociación significativa entre el VPM y algunas enfermedades, especialmente con trastornos cardiovasculares. Las plaquetas más grandes sobreexpresan marcadores de activación superficial y parecen ser metabólicamente y enzimáticamente más activas, estableciendo así un medio protrombótico que aumenta el riesgo de trombosis. Lamentablemente, no está claro qué sucede primero, ¿Las plaquetas más grandes son la causa de la trombosis? ¿O el proceso trombótico ha contribuido directamente a desencadenar la activación plaquetaria y el aumento del VPM? La evaluación del tamaño de las plaquetas podría considerarse como una

herramienta valiosa para el diagnóstico y la monitorización terapéutica de un amplio espectro de trastornos arteriales y venosos (5).

El VPM está disponible universalmente con los recuentos sanguíneos de rutina mediante hemogramas automatizados y es un método simple y fácil para evaluar la función plaquetaria. Para lograr una superficie más grande, las plaquetas sufren cambios en la estructura mediante la activación. El diámetro vertical de las plaquetas es importante para medir el volumen de las mismas, lo que se logra mediante un analizador de hematología, utilizando la deformación del campo eléctrico, basado en la tecnología de impedancia. El volumen se determina midiendo el diámetro transversal de la plaqueta (1,2,4-6).

Los factores de riesgo cardiovascular establecidos, como el tabaquismo, la hipertensión, la dislipidemia y la diabetes, pueden influir en el VPM. La evidencia, particularmente derivada de estudios prospectivos y un metaanálisis, sugiere una correlación entre un aumento en el VPM y el riesgo de trombosis. El alto VPM se asocia con una variedad de factores de riesgo establecidos, trastornos cardiovasculares y cerebrovasculares, y afecciones inflamatorias de bajo grado con tendencia a trombosis arterial y venosa (1,2,4-17). Las enfermedades inflamatorias de alto grado, como por ejemplo la artritis reumatoidea (AR), se asocia con bajos niveles de VPM, que se revierten en el curso de la terapia antiinflamatoria (18,19). La modificación del estilo de vida, los antihipertensivos, los hipolipemiantes y las terapias dietéticas también pueden afectar los valores de VPM, pero estos efectos deben investigarse en grandes estudios prospectivos con criterios de valoración trombóticos (4,5,9-12,15,17).

A continuación, en una primera etapa realizaré una revisión de la biología plaquetaria y sus funciones y en una segunda etapa analizaré el comportamiento del VPM en diferentes procesos inflamatorios como un posible marcador pronóstico y terapéutico, así como los factores que influyen en su medición.

2. Megacariopoyesis

Se llama megacariopoyesis al proceso de diferenciación de la línea megacariocítica y trombopoyesis al proceso de liberación de plaquetas a partir del citoplasma del megacariocito maduro. Cabe mencionar que algunos autores consideran estos dos términos como sinónimos. Estos procesos se llevan a cabo en

médula ósea, aunque existen algunos autores que proponen que el pulmón es uno de los sitios donde ocurre trombopoyesis y se le postula como uno de los sitios importantes para la liberación de plaquetas a la sangre (12,13,20-23).

La célula bipotencial megacariocítica-eritroide (PEM) da lugar a la unidad formadora de brotes de megacariocitos o BFU-Meg, que se diferencia de la unidad formadora de colonias de megacariocitos o CFU-Meg. Los marcadores de las CFU-Meg y BFU-Meg que indican que ya se diferenció a línea megacariocítica son CD34, CD33 y CD41. De importancia especial es el CD41, un marcador específico de este linaje (12,21).

La primera célula identificable de la línea megacariocítica es el pro megacarioblasto. Esta célula, de 15 a 50 μm de diámetro, con un núcleo ovalado o arriñonado, tiene dos juegos de cromosomas (4N) y el citoplasma muy basófilo, ya que tiene una gran cantidad de ribosomas, pero aún no presenta gránulos (12,21).

El pro megacariocito mide 20 a 80 μm de diámetro con un citoplasma menos basófilo, pero ya con presencia de gránulos (20,21).

El megacariocito es la célula más grande de la médula ósea con diámetro de hasta 150 μm , debido a que presenta un proceso llamado endomitosis, en el cual la célula duplica su material genético y tiene mitosis, pero sin cariocinesis ni citocinesis. Presenta un núcleo poliploide o multilobulado (hasta 64N de material genético), de hecho, debe su nombre a esta característica (*mega* = grande; *karyo* = núcleo). La poliploidía de la célula es necesaria para la subsecuente acumulación de citoplasma para liberar una adecuada cantidad de plaquetas. Este citoplasma es muy granular, contiene gránulos alfa y densos que tienen sustancias importantes para la activación y agregación plaquetaria. El citoplasma del megacariocito se fragmenta para dar lugar a miles de plaquetas; se dice que cada megacariocito maduro puede dar lugar a 10^4 plaquetas (20,21).

En la especie humana, los megacariocitos representan de 0,05% a 0,1% de las células nucleadas de la médula ósea y su número aumenta cuando se incrementa la demanda de plaquetas. Se encuentran típicamente en la médula ósea; sin embargo, también se han localizado en la circulación y en los pulmones. Cada megacariocito produce alrededor de 1000 a 3000 plaquetas (12,21).

El megacariocito deriva de una célula de la médula ósea llamada célula troncal hematopoyética, la cual tiene la capacidad de autorrenovarse, es multipotencial y expresa en su superficie antígenos como CD34, CD90, CD117 y CD133 y carece de la expresión de antígenos de linajes específicos. Esta célula progenitora multipotente da origen al PLC (progenitor linfoide común) y al PMC (progenitor mieloide común), que da origen a las PGM (progenitores granulocito/monocítico) y PEM (progenitores eritroides/megacariocíticos) (20,21).

A partir del pro megacarioblasto ya tiene los antígenos de superficie CD41 o glucoproteína IIb (GPIIb), CD42 o glucoproteína Ib (GPIb) y CD61 o glucoproteína IIIa (GPIIIa), así como el factor de von Willebrand (FVW) (20). (Figura 1).

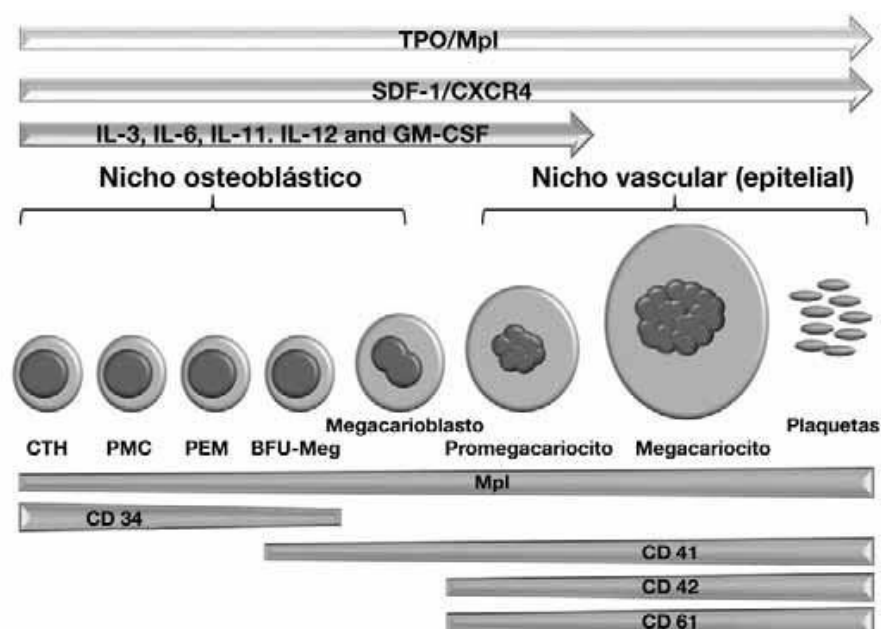


Figura 1. En la parte superior, con flechas, las citocinas y quimiocinas más importantes que activan el proceso de maduración y diferenciación de los megacariocitos. Con llaves se hace notar en qué sitio se lleva a cabo la diferenciación del megacariocito, recordando el papel fundamental de SDF1 y FGF4 en la migración hacia el nicho vascular. En la parte inferior, los marcadores de superficie de acuerdo con la etapa de maduración de los megacariocitos. Modificado de González – Villalva AE, Falcón Rodríguez y col (20).

La diferenciación de progenitores a células precursoras depende de la activación de genes específicos para cada linaje en particular, como de la presencia de diversos factores de crecimiento, citocinas y quimiocinas, las cuales determinan el destino de cada célula en particular (20,22,24).

La liberación de las plaquetas a la sangre se parece al proceso de la apoptosis, se observan protrusiones citoplásmicas, fragmentación del citoplasma y existe activación de caspasas. Se extienden largas prolongaciones de citoplasma, las

proplaquetas, y esto involucra la reorganización de filamentos de actina seguida de la extensión de microtúbulos en los que está involucrada la tubulina $\beta 1$, dependiente del Factor de Transcripción NF-E2, parte esencial del proceso. Este conocimiento se adquirió en parte gracias a la videomicroscopía, que permitió ver que es un proceso dinámico donde hay extensión y retracción de las proplaquetas. Incluso se forman ramificaciones para dar lugar a mayor número de extremos libres, de donde se desprenden las plaquetas maduras (20,22,24).

2.1 Megacariopoyesis dependiente de trombopoyetina

La principal hormona reguladora de la producción plaquetaria es la Trombopoyetina (TPO), glucoproteína de 353 aminoácidos con peso molecular de 30 kDa, que comparte cierta homología con la eritropoyetina; su gen está localizado en el cromosoma 3q27 (12,13,20,24).

Los niveles aumentados de TPO ocasionados por sobreexpresión genética en ratones transgénicos tienen como consecuencia aumento en las colonias de precursores megacariocíticos, incremento en el número de megacariocitos y en su tamaño, así como en el número de plaquetas y en su volumen. También se observa leve anemia en estos ratones, por lo que se postula que TPO desvía la diferenciación de la célula madre bipotencial (PEM) hacia megacariocitos a expensas de la línea eritroide. La administración exógena de TPO también produce megacariocitosis y trombocitosis y en estudios de agregometría se ha observado que aumenta la activación plaquetaria ante diferentes agonistas (20,24).

Después de numerosas investigaciones se ha visto que los niveles de TPO en sangre y médula ósea son inversamente proporcionales al recuento plaquetario, aunque existen algunas excepciones. La regulación de los niveles de TPO se basa principalmente en la unión a su receptor Mpl, su internalización y destrucción. Existen receptores Mpl tanto en megacariocitos como en plaquetas circulantes. Si aumenta el número de plaquetas, aumenta el número de receptores en su superficie y, por lo tanto, disminuye la TPO. En cambio, si disminuye el número de plaquetas disminuye también el número de receptores y la TPO libre aumenta en sangre porque queda libre y puede actuar en los megacariocitos de médula ósea para estimular la producción plaquetaria (20,24).

La producción de TPO por el hígado y el riñón aparentemente es constitutiva y no aumenta ni disminuye ante los cambios en el número de plaquetas circulantes. En algunos casos puede estar aumentada la producción de TPO, como en la trombocitosis reactiva secundaria a inflamación, caracterizada por el aumento en el TNF que estimula el aumento de IL6 y se ha demostrado que esta interleucina estimula la transcripción de TPO en el hígado. Otro factor que estimula su producción en hígado es el factor de crecimiento de hepatocitos. Algunos factores que aumentan la producción de TPO en células del estroma de médula ósea son el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) y FGF2 (factor de crecimiento fibroblástico-2). Otros factores la disminuyen, como el TGF β (factor de crecimiento transformante Beta), factor-4 plaquetario, trombospondina, etcétera (12,13,20,24).

3. Estructura y función de las plaquetas

Las plaquetas se originan a partir del citoplasma de los megacariocitos de la médula ósea, no tienen ADN genómico, pero contienen ARN mensajero (ARNm) derivado de los megacariocitos y la maquinaria para la traducción necesaria para la síntesis de las proteínas (6, 8,11). Las plaquetas circulantes tienen forma discoide, con dimensiones de aproximadamente 2,0–4,0 por 0,5 μm , y un volumen medio de 7–11 fl. Su forma y tamaño pequeño permiten que sean empujadas hacia los bordes de los vasos sanguíneos, colocándolas en una posición óptima para la vigilancia constante de la integridad vascular. Circulan en concentraciones de 150.000-450.000 células/ml. De la cantidad total de plaquetas en el cuerpo, 70% se mantiene en circulación, mientras que el restante 30% permanece de manera transitoria pero constante en el bazo, perdurando en circulación durante un promedio de 10 días. El bazo y el hígado se encargan de retirar a la mayoría de las plaquetas después de su senescencia, aunque una pequeña fracción se elimina constantemente como resultado de su participación en el mantenimiento de la integridad vascular (21).

En frotis de sangre periférica coloreados con tinción de Wright-Giemsa, las plaquetas aparecen como pequeñas células granulares con una membrana áspera, y normalmente se encuentran entre 3-10 plaquetas por campo de alto poder de inmersión en aceite. A pesar de su apariencia simple en el frotis de sangre periférica, las plaquetas tienen una estructura compleja (24). (Figura 2).

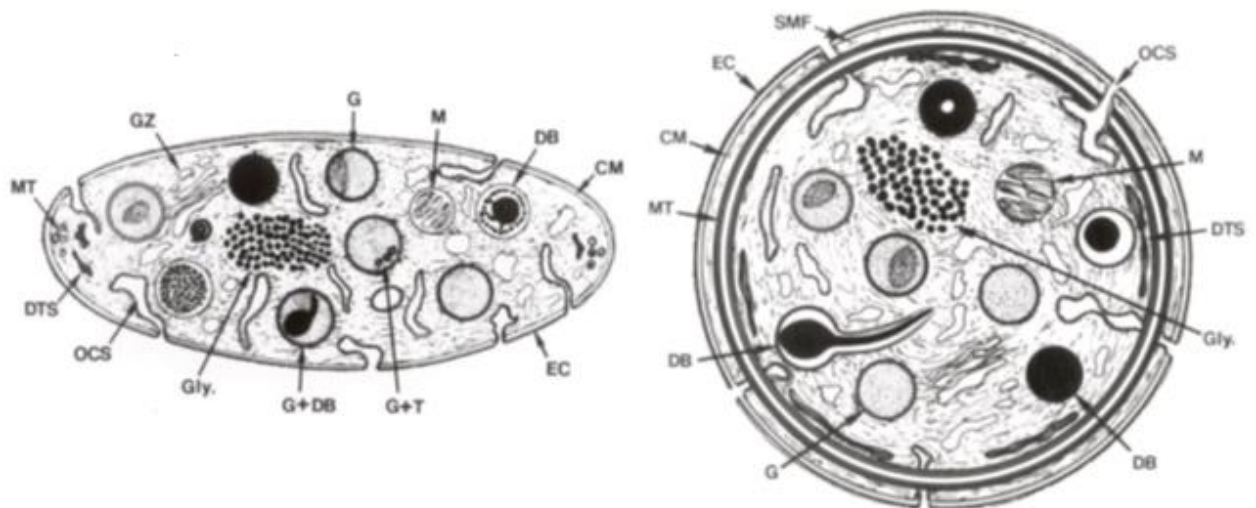


Figura 2. Plaquetas discoides. El diagrama resume las características ultraestructurales observadas en secciones poco densas de plaquetas discoides cortadas en sección cruzada [las siglas subsiguientes están en inglés]. Los componentes de la zona periférica incluyen capa exterior (EC), membrana unitaria trilaminar (CM), y área de submembranas que contienen filamentos especializados (SMF) que forman la pared de la plaqueta y revisten los canales del sistema canalicular abierto conectado a la superficie (OCS). La matriz del interior de la plaqueta es la zona sol-gel que contiene microfilamentos de actina, filamentos estructurales, la banda circunferencial de microtúbulos (MT) y glicógeno (Gly). Los elementos formados incrustados en la zona sol-gel incluyen mitocondrias (M), gránulos (G) y cuerpos densos (DB). Colectivamente constituyen la zona de organelas. Los sistemas de membranas incluyen el sistema canalicular abierto conectado a la superficie (OCS) y el sistema tubular denso (DTS), que sirven como retículo sarcoplásmico de la plaqueta. Modificado de Sharathkumar AA, Shapiro (24).

Su estructura interna se ha dividido en cuatro zonas:

- Zona periférica
- Zona sol-gel
- Zona de organelas
- Zona de la membrana

La zona periférica incluye la membrana plasmática, glicoproteínas y submembranas. La plaqueta tiene un sistema de canales conectados a la superficie llamado sistema canalicular abierto. Las paredes del sistema canalicular abierto están incluidas en esta zona y ofrece acceso a las sustancias plasmáticas al interior de la plaqueta y un canal de salida para los productos plaquetarios, a través del cual se transportan las GPIIb/IIIa y la GP1b hacia los gránulos α (25,26). Tienen una importante participación en el funcionamiento celular, al propiciar la interacción entre plaquetas, de ahí que la cantidad de gránulos α determina el valor funcional de la

célula. También participan en la interacción con otras células a través de la liberación de su contenido (21,24-26). A la liberación de productos plaquetarios a través del sistema canalicular abierto después de la activación plaquetaria se le llama “reacción de liberación” (21,24-26).

Las membranas de la plaqueta tienen múltiples receptores plaquetarios, los cuales determinan su identidad celular específica. Estos receptores se expresan de manera constitutiva en las plaquetas y requieren de cambios de conformación durante la activación de estas células a fin de expresar su función receptora (21).

La zona periférica también incluye los fosfolípidos de la membrana. Los fosfolípidos son un componente importante de la coagulación, ya que proporcionan la superficie sobre la cual reaccionan las proteínas de la coagulación. También sirven como sustrato inicial para las reacciones enzimáticas plaquetarias a fin de producir tromboxano A₂ (TXA₂), un producto importante de la activación plaquetaria y un potente agonista plaquetario (sustancia que promueve la agregación plaquetaria). La membrana de la plaqueta también tiene la capacidad de traducir señales de la superficie en señales químicas internas (21).

La zona sol-gel se encuentra debajo de la zona periférica y constituye la estructura de la plaqueta, el citoesqueleto. Constituye el sostén para el mantenimiento de la forma discoide de la plaqueta, así como del sistema contráctil que, tras la activación, permite cambio de forma, prolongación pseudopódica, contracción interna y liberación de constituyentes granulares. El citoesqueleto comprende entre 30%-50% de la proteína total de la plaqueta. Es un gel viscoelástico que contiene filamentos de actina entrecruzados, conectados a la GPIIb por proteínas enlazantes de actina. Tiene como funciones la regulación de las propiedades de la membrana, tales como sus contornos y estabilidad, la mediación de la distribución lateral de las glicoproteínas receptoras en la membrana y constituye una barrera para la exocitosis. (21,25,26).

La zona de organelas está formada por gránulos y componentes celulares como lisosomas, mitocondrias y peroxisomas. Estas organelas sirven en los procesos metabólicos de la plaqueta, almacenan enzimas y otra gran variedad de sustancias críticas para la función plaquetaria. Existen dos compartimentos de nucleótidos de adenina: la reserva de almacenamiento o secretable en los gránulos densos y la

reserva metabólica o citoplasmática. Los gránulos alfa y densos son los más importantes de esta zona (21,24-26).

Entre los tres tipos de gránulos secretores de plaquetas (gránulos α , gránulos densos y lisosomas), el gránulo α es el más abundante. Hay aproximadamente 50–80 gránulos α por plaqueta, que varían en tamaño desde 200–500 nm. Comprenden aproximadamente el 10% del volumen total de las plaquetas (25). Al activarse la plaqueta, los gránulos α se fusionan con la membrana plasmática, liberando su carga y aumentando el área de superficie de las plaquetas. Los gránulos α son esenciales para la actividad plaquetaria normal, derivan su carga tanto de las vías secretoras reguladas como de las endocíticas en los megacariocitos. El desarrollo de los α -gránulos comienza en el megacariocito, pero continúa en la plaqueta circulante. Sus membranas contienen GPIIb/IIIa, pequeñas cantidades de GPIb, Glucoproteína IX (GPIX) y P selectina. Tienen una importante participación en el funcionamiento celular, al propiciar la interacción entre plaquetas, también participan en la interacción con otras células a través de la liberación de su contenido (25,26).

Los gránulos densos aparecen como cuerpos densos en microscopía electrónica debido a los contenidos elevados de calcio y fosfato, son aproximadamente 10 veces menos abundantes que los gránulos α y miden aproximadamente 150 nm de diámetro. También liberan su contenido al entorno extracelular tras la activación plaquetaria. Almacenan los nucleótidos adenosin difosfato y trifosfato (ADP y ATP). El ATP puede modular las vías inflamatorias al activar las células dendríticas, mientras que el ADP proporciona un mecanismo de retroalimentación que activa las plaquetas. La serotonina puede mediar el tono vascular y también reclutar neutrófilos en los sitios de inflamación. Otros constituyentes incluyen cationes, como calcio y magnesio, que pueden soportar procesos de transducción de señales (25,26).

Los lisosomas tienen un diámetro de aproximadamente 200 a 250 nm y pueden identificarse microscópicamente mediante tinción para enzimas lisosomales, como la fosfatasa ácida o arilsulfatasas. Contienen proteasas como la carboxilpeptidasa, que contribuyen al potencial inflamatorio de las plaquetas (25,26).

4. El papel de las plaquetas en la hemostasia

En un estado fisiológico normal, las plaquetas circulan sin adherirse al endotelio vascular sano. Cuando hay alteraciones en la integridad del mismo o en la fuerza de cizallamiento del flujo sanguíneo, las plaquetas se “activan”. La activación de las plaquetas desempeña un papel esencial en las respuestas tanto benignas como patológicas a lesiones vasculares y formación de trombos. El proceso de transformación de plaquetas inactivas en un tapón plaquetario bien formado ocurre a lo largo de un proceso simultáneo, pero puede dividirse en tres etapas: adhesión, agregación y secreción (12,21,24).

4.1 Adhesión plaquetaria

Cuando ocurre una lesión en la pared de un vaso, quedan expuestos productos subendoteliales (por ejemplo, colágeno, FVW, fibronectina y laminina). El FVW facilita la adhesión inicial al unirse al complejo glucoproteínico Ib/IX/V, particularmente en presencia de fuertes fuerzas de cizallamiento. Estas interacciones permiten que la velocidad de circulación de las plaquetas disminuya lo suficiente para que tengan lugar otras interacciones de unión en otros pares receptor-ligando, lo que produce una adhesión estática. En particular, la interacción inicial entre colágeno y GPVI induce un cambio conformacional (activación) en las integrinas de las plaquetas GPIIb/IIIa y GPIa/IIa. El FVW y el colágeno forman sólidas uniones con GPIIb/IIIa y GPIa/IIa respectivamente, anclando a las plaquetas en su lugar. El reclutamiento de otras plaquetas ocurre por medio de una interacción plaqueta-plaqueta que es mediada principalmente a través del fibrinógeno y su receptor, GPIIb/IIIa (21,24).

La expresión disminuida o ausente de las glicoproteínas GPIb/IX/V y GPIIb/IIIa dan origen a dos patologías denominadas Síndrome de Bernard- Soulier y Trombastenia de Glanzman que se manifiestan con una deficiencia en el proceso de adhesión plaquetaria (21,24).

4.2 Agregación y secreción plaquetarias

Al activarse, las plaquetas sufren cambios morfológicos. La forma de las plaquetas cambia de un disco a una esfera puntiaguda con múltiples extensiones pseudopodiales. La membrana plaquetaria se reacomoda, dejando expuestos fosfolípidos de carga negativa que facilitan la interacción con las proteínas de la coagulación para formar los complejos de tenasa y protrombinasa. El contenido de los gránulos plaquetarios es secretado a través del sistema canalicular conectado a la superficie, y ADP, fibrinógeno y factor V aparecen en la superficie de las plaquetas y en el medio inmediato que las rodea. Se secreta PDGF, lo cual conduce a la proliferación de músculo liso. La secreción repetida de PDGF provocada por episodios recurrentes de activación plaquetaria incrementa la proliferación de músculo liso y puede dar inicio a aterosclerosis. El factor 3 plaquetario también se expresa después de la activación plaquetaria. Pueden desprenderse pequeños fragmentos de la plaqueta para dar lugar a micropartículas circulantes. Las interacciones plaqueta-agonista dan lugar a la producción o liberación de diversas moléculas mensajeras intracelulares que facilitan estas reacciones (21,24).

Conforme se reclutan las plaquetas hacia el área lesionada del vaso sanguíneo, éstas son activadas por una gama de agonistas que ellos mismos liberan de sus gránulos, entre los que se cuentan ADP, trombina y tromboxanos. Estos interactúan con receptores transmembrana y están ligados a proteína G, quienes son responsables de la activación de enzimas que participan en vías metabólicas celulares, en particular el fosfatidilinositol 3-quinasa y la fosfolipasa C. La activación de la vía metabólica provoca la elevación del calcio citoplásmico y la fosforilación de proteínas de sustrato, lo cual genera cambios en el citoesqueleto, permitiendo el cambio de forma y la dispersión de las plaquetas, la liberación de contenidos granulares alfa y densos, la estimulación de la fosfolipasa A2 y la producción de TXA2, la inducción de una superficie procoagulante, y la activación de las glicoproteínas GPIIb/IIIa (24,25). (Figura 3).

En los modelos experimentales, y también en el ser humano, se ha demostrado que las plaquetas grandes se agregan rápidamente con ADP y colágeno, contienen más gránulos densos y producen en mayor cantidad factores protrombóticos, como TXA₂, serotonina y trombomodulina, en comparación con las plaquetas de tamaño normal o reducido (13).

El VPM se determina en la megacariopoyesis y en la trombopoyesis y no tiene relación alguna con la edad de la plaqueta. El VPM tiene asociación con las concentraciones de trombopoyetina e interleucina-6, citocinas que regulan la ploidía de los megacariocitos y el número de plaquetas (13).

Bajo circunstancias normales existe una relación inversa entre el tamaño y el número de plaquetas. Por tal razón, la masa plaquetaria total, producto del VPM y el recuento plaquetario ("plaquetocrito") está estrechamente regulada. Cuando hay una disminución en el recuento plaquetario, la trombopoyetina estimula los megacariocitos de la médula ósea y sus núcleos se vuelven lobulados, con un contenido alto de ADN (mayor ploidía). Los megacariocitos estimulados producen plaquetas más grandes. Por consiguiente, se espera ver plaquetas con VPM alto en trombocitopenia destructiva cuando coexiste la estimulación de megacariocitos. De forma inversa se espera ver plaquetas con VPM bajo en estados trombocitopénicos asociados con hipoplasia o aplasia medular (13).

Una excepción en esta relación ocurre en el secuestro esplénico durante la esplenomegalia. En condiciones normales el bazo secuestra 1/3 de las plaquetas circulantes. Cuando éste aumenta su tamaño, secuestra más plaquetas disminuyendo tanto el recuento como el VPM. En estados hipo-esplénicos se aprecia un VPM alto porque no hay bazo que secuestre a las plaquetas grandes (12,13, 23).

6. Factores genéticos relacionados con el recuento y volumen de plaquetas

En la última década hubo un gran avance en la ciencia y la tecnología que ha permitido conocer no solo el genoma humano sino también los genes involucrados en determinadas patologías. Para ello, grandes estudios de genética humana han examinado la asociación de la variación genética en dos rasgos cuantitativos medidos

en varios cohortes poblacionales y basadas en pacientes: recuentos de plaquetas y VPM (27). Estas investigaciones están diseñadas para continuar su crecimiento en los próximos años y proporcionar oportunidades sin precedentes para obtener información crítica sobre la biología de las plaquetas y cómo contribuyen a la enfermedad (27).

Existen diferencias notables de género, edad, sexo y población en el recuento de plaquetas y VPM, teniendo las mujeres generalmente un mayor recuento de plaquetas y un VPM que disminuye con la edad (12,13,27-29). Además, se han identificado y caracterizado a los genes causantes de varias trombocitopenias heredadas, trombocitosis y trastornos de la función plaquetaria. Por ejemplo, las variantes en el gen WAS causan el síndrome de Wiskott- Aldrich (OMIM #301000), un raro trastorno ligado a X caracterizado por eccema, trombocitopenia e infección (27). La identificación de los genes causales y las variantes de los trastornos plaquetarios raros mejora el diagnóstico adecuado y puede ayudar a comprender la patogénesis subyacente de la enfermedad (27).

Para identificar los factores genéticos que influyen en el recuento de plaquetas y el VPM en la población general, los investigadores han empleado diversos enfoques. Uno de ellos es el estudio de asociación del genoma completo (GWAS), que resulta ser la estrategia más utilizada para identificar las asociaciones genéticas de plaquetas y VPM. En GWAS, los investigadores determinaron el genotipo de cientos de miles de polimorfismos de nucleótido único (SNP) diseñados para etiquetar la variación genómica y evaluar la asociación de cada SNP con un rasgo (27). GWAS puede identificar regiones genómicas donde las variantes comunes influyen en los rasgos, las mismas suelen tener efectos reguladores pequeños pero críticos. En conjunto, pueden tener un efecto sustancial en los fenotipos y reflejar el gran número de dichas variantes asociadas con rasgos complejos como el recuento de plaquetas y el VPM (27).

Los estudios de asociación genética suelen ser solo un primer paso para examinar el papel de los genes y variantes asociados al recuento de plaquetas y VPM. Los resultados más simples de la asociación genética cruzada han mostrado una gran superposición entre células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas), así como también entre las plaquetas y los lípidos (27) (Figura 4). Las correlaciones genéticas que utilizan GWAS han confirmado la arquitectura genética compartida del

recuento de plaquetas y VPM y también sugirieron factores genéticos que comparten las plaquetas con los lípidos y la estatura o talla humana. Tales análisis pueden revelar relaciones que las plaquetas comparten con rasgos aparentemente dispares. Los análisis de Aleatorización Mendeleiana permiten evaluar las relaciones causales entre las plaquetas y otros rasgos clínicos, es decir pueden determinar si las plaquetas tienen un impacto causal en las enfermedades y los factores de riesgo o si las asociaciones epidemiológicas son simplemente correlativas (27).

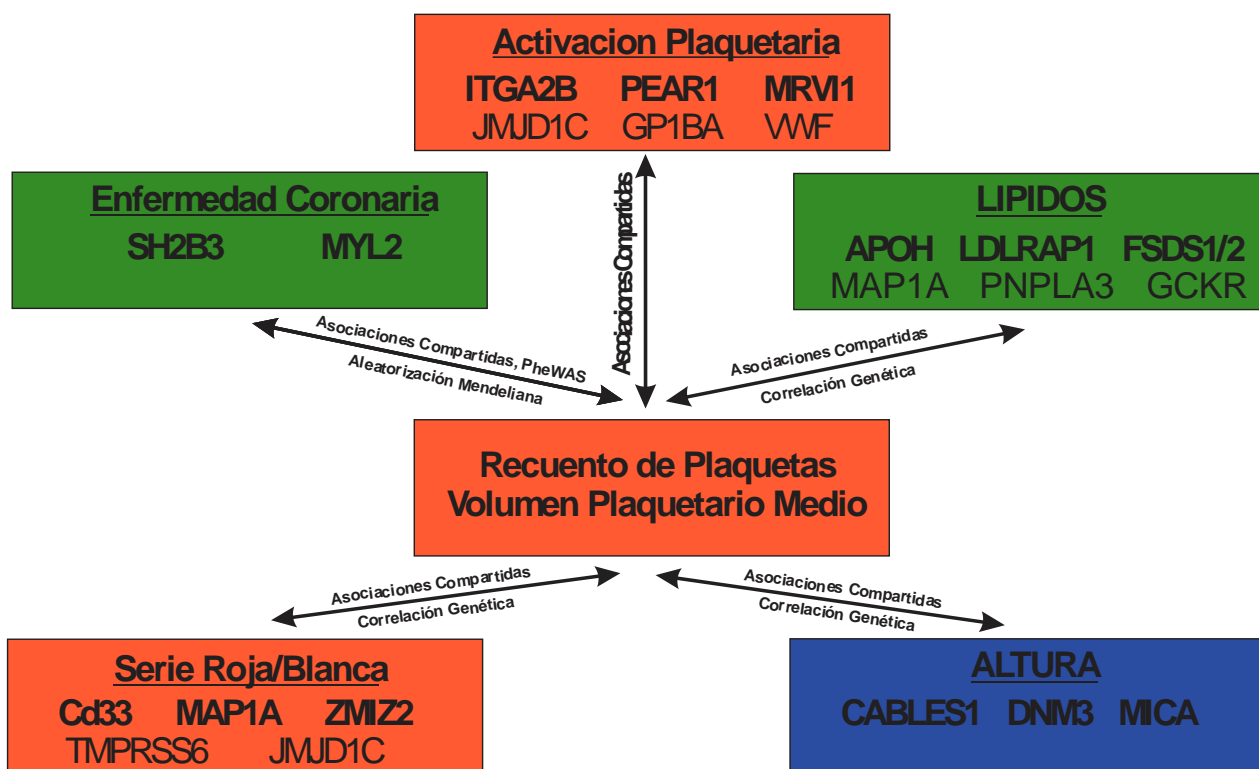


Figura 4. Conexiones entre genoma significativo. Locus asociados PLT y MPV y otros rasgos y enfermedades a través de diferentes pruebas. Modificado de Eicher JD, Lettre G y col. (27).

Por ejemplo, Astle y sus colegas examinaron los efectos causales del recuento de plaquetas y el VPM en varios trastornos autoinmunes, cardiometabólicos y neuropsiquiátricos (30-32). Observaron una relación inversa débil entre el VPM y la cardiopatía coronaria (Fig.4). El uso de la Aleatorización Mendeleiana y la selección de instrumentos genéticos apropiados pueden representar una nueva estrategia para aclarar las relaciones de las plaquetas con las diferentes patologías (27).

Los estudios de asociación genética han revelado factores genéticos compartidos entre numerosos rasgos, lo que sugiere que existen vías de regulación comunes (Fig.4). Además, la acumulación de asociaciones genéticas en los genes

relacionados con el citoesqueleto (por ejemplo, ACTN, PACSIN2) ha confirmado aún más la importancia de la dinámica del citoesqueleto en los megacariocitos con efectos sobre el recuento de plaquetas y VPM. La identificación de más locus asociados tiene la posibilidad de revelar nuevas vías que contribuyen al recuento de plaquetas/ VPM (27).

7. Estudios de asociación genética y su contribución al VPM

En 2009 Soranzo (33) y colaboradores realizaron un estudio de asociación de todo el genoma para VPM. Identificaron en el cromosoma 7q22.3 un SNP, rs342293 con una asociación altamente significativa y reproducible con VPM y plaquetas en personas sanas. En donde el alelo G menor rs342293 se asocia con aumento del VPM y también con disminución de la reactividad plaquetaria (33). Con base a lo anterior, se concluye que el locus 7q22.3 es responsable de una pequeña fracción (1.5%) de la variabilidad total del VPM atribuible a factores genéticos, lo que puede resultar, en ocasiones, en elevación de VPM sin causa aparente, confiriendo él mismo riesgo independiente de mal pronóstico y mayor prevalencia en enfermedades cardiovasculares y protrombóticas (13,33). Este estudio permitió identificar el primer locus asociado con la variación en el volumen, el recuento y la función de las plaquetas en la población sana (33).

Con respecto a esto, se han descrito variables genéticas en el gen de la histona desmetilasa *JMJD1C* y polimorfismos de nucleótido único (SNP) en el alelo rs81092888 del gen *TMP4*, que se asocian con VPM mayor en caucásicos (13,28).

En 2012 el grupo de Nürnberg (34) y colaboradores realizó un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) identificando 68 SNPs que fueron asociados con la variación en el VPM humano y el número de plaquetas (34). Este estudio demostró que existe una variante de SNP (rs2038479) que marca un sitio promotor alternativo megacariocitos-específica. Basándose en la hipótesis de que algunos de estos SNPs actuarían alterando la síntesis de DNA se focalizó la investigación en el *MEIS1* que es un factor de transcripción involucrado en la megacariopoyesis (34).

Para demostrar que el factor de transcripción homeobox MEIS1 se transcribe de manera única en megacariocitos y no en las otras células sanguíneas comprometidas con el linaje, los investigadores establecieron un catálogo completo de genes regulados por MEIS1 utilizando la técnica de Secuenciación de inmunoprecipitación de Cromatina (ChIP- seq) en la línea celular megacariocítica. Este estudio reveló sitios de unión a MEIS1 en un conjunto de 1285 genes. En uno de esos lugares, en *DNM3*, el sitio de unión a MEIS1 se encuentra dentro de una región que actúa como un promotor alternativo que se usa únicamente en megacariocitos, donde la variación alélica establece diferentes niveles de una transcripción más corta. Experimentalmente observaron que el inhibidor Dynasore redujo la formación de proplaquetas murinas in vitro, confirmando así la importancia de *DNM3* en las últimas etapas de la trombopoyesis (34).

Previamente en otro estudio GWAS mostró que la variante SNP (rs10914144) situada dentro del segundo intrón del locus del gen *DNM3* está asociada con la variación en el volumen de plaquetas humanas (29).

El estudio de Nürnberg (34) mostró que una segunda variante de SNP (rs2038479) marca un sitio promotor alternativo megacariocitos-específica. Este promotor se une a los factores de transcripción Mk MEIS1/RUNX1 y produce una transcripción más corta de *DNM3*. Los alelos menores ("C" para rs2038479 y "T" para rs10914144) se asocian con disminución de la expresión de la transcripción alternativa y menor tamaño de las plaquetas. Factores de transcripción represivos se unen al alelo menor rs2038479 con una afinidad mayor que el alelo principal (29). *DNM3* es un miembro de una superfamilia de genes que codifican GTPasas (29,34,35).

Estos factores juegan un papel importante en la remodelación de la membrana a través de sus propiedades mecano-enzimáticas como, por ejemplo, la regulación de la fusión vesícula endocítica, la adhesión de la membrana celular al citoesqueleto de actina entre otras (34,35). Estudios recientes han proporcionado evidencia de un papel importante de *DNM3* en la megacariopoyesis humana (34). Los resultados de este estudio deben estimular investigaciones adicionales sobre el papel del gen que codifica para la proteína Dynamin 3 en la producción de plaquetas y remodelación de membrana. Es probable que la elucidación de sus mecanismos moleculares

identifique nuevos componentes y las vías reguladoras implicadas en la trombopoyesis (34). (Figura 5).

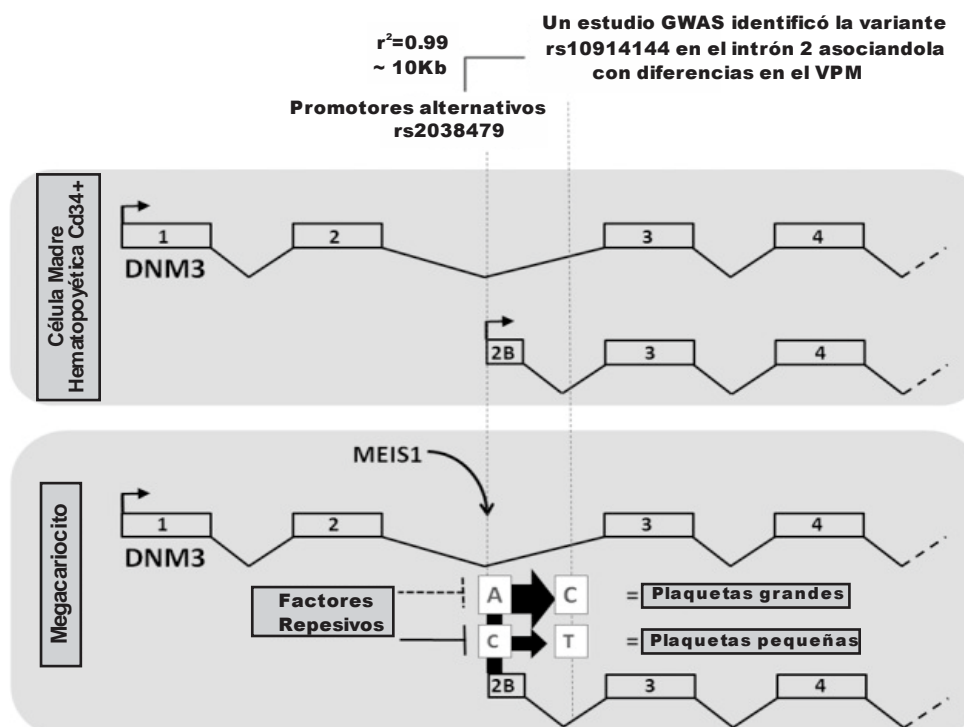


Figura 5. Se muestran los dos SNPs y su relación con la transcripción del DNM3 y el VPM. Modificado de Nurnbeng ST, Rendon A y col (34).

Los niveles de transcripción de DNM3 representados por los tamaños de las flechas nos muestran que el VPM de personas homocigotas para el alelo principal C de la variante más larga es mayor comparado con los valores observados en los pacientes homocigotas para el alelo menor T. En este estudio se muestra que hay un sitio de inicio de transcripción alternativo para la unión del factor de transcripción MEIS1 en el intrón 2, únicamente en megacariocitos. Este sitio contiene al SNPs (rs 2038479) (34).

PARTE II: VPM en diferentes procesos proinflamatorios

8. Recuento de plaquetas y medición de VPM

El VPM es la medición geométrica del tamaño de las plaquetas, el cual está en relación directa con su tamaño. Se mide en fentolitros (fl) y su valor de referencia es de 7.5 a 11 fl. de acuerdo a la tecnología empleada (12,13). El VPM es medido por contadores celulares automatizados con base en impedancia y efecto óptico. La inclusión de la determinación de plaquetas en los contadores automáticos de los años 70 mejoró claramente el recuento plaquetario, ofreciendo mayor exactitud y precisión.

Metodologías empleadas:

Hay 4 principios diferentes para el conteo de plaquetas:

1. Conteo manual. Método directo de Brecher y Cronkite. (con microscopio de contraste de fase).
2. Conteo por impedancia.
3. Conteo óptico por dispersión de la luz.
4. Técnicas de citometría de flujo inmunológico.

1. El recuento manual en sangre entera, empleando un “Microscopio de Contraste de Fase” para su identificación, fue considerado como “*gold estándar*” hasta el advenimiento de la metodología de inmunomarcación con citometría de flujo (6).

El método directo, donde la sangre entera una vez diluida con el reactivo oxalato de amonio al 1%, se carga en cámara húmeda, luego de sedimentarse, las plaquetas se cuentan en una cámara convencional o una espejada y finalmente se realiza el cálculo para ser informadas.

Durante mucho tiempo, esta técnica de trabajo minucioso no permitió la adición del VPM a los parámetros de rutina, y los métodos automatizados aún eran demasiado imprecisos. Aunque la implementación de contadores automáticos en la década de 1970 incrementó dramáticamente la precisión, los problemas para diferenciar entre plaquetas y otras partículas pequeñas, como los glóbulos rojos fragmentados y los

complejos inmunes, especialmente en pacientes con bajo recuento de plaquetas, presentan una fuente de incertidumbre (6).

Para una correcta evaluación de las plaquetas resulta imprescindible realizar sistemáticamente una observación microscópica del frotis de sangre (Método indirecto de Fonio) para hacer una estimación del número y morfología de las plaquetas y eventualmente confirmar o no el recuento automatizado con el recuento por microscopía (13,36,37). Para realizar el frotis es recomendable usar la gota de aguja que no tuvo contacto con el anticoagulante empleado. Aunque este método indirecto de recuento de plaquetas es menos exacto que un método automatizado, tiene mucha utilidad en identificar alteraciones en la morfología y agregados plaquetarios, disminuyendo así la probabilidad de subestimar el recuento.

2. En la década de 1950, WH Coulter desarrolló y presentó el principio de Coulter utilizando la impedancia electrónica, que revolucionó el conteo de plaquetas. El método de impedancia se basa en las propiedades de las células sanguíneas de no ser conductoras de la electricidad. Con el conteo de impedancia, las partículas que varían de 2 a 20 fl en volumen se consideran plaquetas. Se elige este rango porque al ser células pequeñas presentan menos interferencia (cuando se observan fragmentos de glóbulos rojos o plaquetas gigantes). A partir de todas las plaquetas contadas y medidas, se crea un histograma de tamaño y se extrapola a 70 fl, después de lo cual, se ajustan curvas log-normales a este histograma. Los datos reales se calculan a partir de esta curva superpuesta, en la que el VPM se corresponde con la media geométrica. Es necesario ajustar una curva para excluir los glóbulos rojos microcíticos y permitir la inclusión de plaquetas gigantes (6). Los problemas que presenta esta metodología son: la medición simultánea de 2 partículas y la medición errónea de glóbulos rojos (fragmentados o pequeños) (6).

3. Para evitar los problemas que presenta la medición por impedancia, en 1970 se propuso el conteo de células ópticas como procedimiento superador. En este, las células se enfocan en una celda de flujo y lo que se mide es la dispersión de la luz láser. Además, el VPM se calcula a partir del modo geométrico en lugar de la media geométrica, lo que significa que se representa la distribución máxima de los volúmenes medidos (6).

Existen diferencias muy significativas entre las técnicas de medición óptica y de impedancia. Al pasar una muestra por los 2 equipos, se obtienen diferentes valores de VPM, reportándose diferencias de hasta un 40% (6).

4. En el año 2000, Harrison y colaboradores presentaron lo que llamaron conteo inmunoplaquetario. La alta precisión de este método llevó a los autores a proponer esto como una nueva técnica de referencia (6). La medición inmunológica utiliza anticuerpos monoclonales para los antígenos de la superficie de las células plaquetarias (principalmente anti-CD41 y anti-CD61). Estos se unen covalentemente a sustancias fluorescentes, como por ejemplo el isotiocianato de fluoresceína. Los antígenos se registran por su fluorescencia cuando son valorados a través de un citómetro de flujo. La principal ventaja del método de conteo de complejos inmunoplaquetarios es la alta precisión, especialmente en muestras con bajos conteos de plaquetas. Harrison (6) mencionó que su método podría sobreestimar a los recuentos de plaquetas de los pacientes que tenían niveles altos de anticuerpos plaquetarios o que fueron tratados con GP antiplaquetarios (por ejemplo, anticuerpos anti-GPIIb / IIIa). Una subestimación del verdadero recuento de plaquetas en ausencia de sus receptores para el antígeno diana, por ejemplo, el síndrome de Bernard-Soulier (38). Como también, Sandhaus y sus colegas observaron una leve subestimación del recuento de plaquetas debido a las plaquetas grandes y grupos de plaquetas (39). Aun considerando estos inconvenientes, este método es muy preciso, particularmente cuando los pacientes presentan trombocitopenia; por lo que es considerado como, “*gold estándar*” y su uso se recomienda para esta población (6).

9. Aspectos técnicos de la medición del VPM y otros índices plaquetarios

La determinación del VPM puede sufrir modificaciones por: anticoagulante, temperatura y el tiempo de almacenamiento de la muestra. Más allá de las variables metodológicas que afectan los resultados, también son importantes algunos inconvenientes pre-analíticos.

9.1 Toma de muestra

En particular, el método de punción venosa y el grado de precisión de llenado y mezcla suave de los tubos de muestreo pueden provocar la activación de las plaquetas y producir aglutinación (6).

9.2 Consideraciones de los anticoagulantes

En muestras anticoaguladas con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), la evaluación del VPM posterior a la hora tiene un incremento aproximado de 9 -28 % debido a edema plaquetario (12,37) por lo que se recomienda que el análisis de la muestra y su lectura se realicen idealmente en la primera hora después de tomar la muestra y de preferencia en los primeros 30 minutos (12). Aunque otros grupos resaltan la importancia en determinar el VPM transcurridas las dos horas de extracción de la muestra (37), momento en el cual, el edema plaquetario inducido por este anticoagulante se estabiliza. En muestras anticoaguladas con citrato de sodio no se observan factores que influyen en los resultados VPM (37).

El EDTA y citrato, ambos se unen al calcio, evitando así la coagulación de manera irreversible (EDTA) o reversible (citrato de sodio). Sin embargo, el volumen de las plaquetas aumentará y continuará haciéndolo aún en presencia de anticoagulante. El mecanismo exacto no se conoce completamente, pero probablemente es causado por la quelación del calcio unido a la membrana en las plaquetas (6). En particular, el EDTA causa cambios morfológicos ultraestructurales en las plaquetas. El sistema canalicular se abre y el volumen de plaquetas aumenta y los receptores GPIIb / IIIa se disociarán de manera irreversible (6). Desafortunadamente, la reacción hacia los anticoagulantes no es uniforme. Por ejemplo, el Na-EDTA como anticoagulante produce un aumento de tamaño menos pronunciado que el K-EDTA (6). Además, incluso la concentración de anticoagulantes puede variar, por ejemplo, para el citrato de sodio, lo que da como resultado un aumento de tamaño más clara utilizando el citrato de "baja concentración" (0,12 mmol / mL, relación 9: 1, sangre a citrato) y casi sin hinchazón en citrato de "alta concentración" (0,12 mmol / mL, relación 4: 1, sangre a citrato) (6).

Trowbridge (40) y Thompson (41) en sus respectivos trabajos, fueron los primeros en comparar cuantitativamente los efectos de los anticoagulantes en la variación del tamaño de las plaquetas. En 1993, el Consejo Internacional de Normalización en Hematología publicó su recomendación, aquí se propone el uso de K₂ - EDTA (1.5 - 2.2 mg / mL de sangre) como método de referencia (42).

Thompson (41) y Bath (43) sostuvieron que la dependencia del intervalo de tiempo es insignificante en el citrato de Na₃ de alta concentración (1: 4, citrato a la sangre), mientras que en el citrato de Na₃ de baja concentración (1: 9, citrato a la sangre) y K-EDTA, los mejores resultados se ven entre 60 y 90 minutos, respectivamente (43). Otros recomiendan medir dentro de la primera hora independientemente del anticoagulante (43)

9.3 Conservación de la muestra

Se refiere a la temperatura de almacenamiento de los tubos. Diversos estudios mostraron que enfriar muestras de sangre citratada de 37 °C a 4 °C aumenta los resultados de VPM en un 18% (43,44). En la práctica diaria real, las mediciones de VPM se realizan a temperatura ambiente (6,37).

Debido a que el uso de VPM como marcador de diagnóstico es cada vez más popular, es importante que se estandaricen las condiciones pre-analíticas como así también someter al equipo donde se realizan las mediciones a controles de calidad internos y externos, y de esta manera poder garantizar la calidad de los resultados.

Es relevante, considerar uniformidad en la medición para que los resultados sean comparables entre sí. Un método estándar debe incluir recomendaciones para una temperatura óptima, el anticoagulante a utilizar, el tiempo desde el muestreo hasta la medición y la técnica implementada (6,37,43-47).

9.4 Otros índices plaquetarios

En busca de una mejor aproximación a su morfología y tamaño, los autoanalizadores han mejorado su tecnología con el paso de los años incorporando progresivamente nuevos parámetros de las plaquetas: plaquetocrito (PCT), ancho de

distribución del volumen plaquetario (PDW) y VPM. Actualmente algunos autoanalizadores de última tecnología han incorporado, el rango de plaquetas mayores a 12 fl como el **P-LCR**, del inglés (platelet large cell ratio) y fracción de plaquetas reticuladas o inmaduras **PR o FPI** y el componente medio plaquetario (**CPM**) (48).

- **PCT:** representa el porcentaje de volumen de plaquetas sobre el volumen total de sangre y se obtiene de la relación del recuento de plaquetas con el VPM. Incrementa sus valores en todos aquellos estados fisiológicos o patológicos que cursen con trombocitosis, aumentos del VPM o ambos (48).

- **PDW:** se calcula a partir de la curva de distribución de volumen de las plaquetas. Determina el grado de anisocitosis plaquetaria (48).

- **PR o FPI:** se ha incorporado como un nuevo parámetro para determinar las plaquetas inmaduras, con el uso de colorantes fluorescentes que tienen la capacidad de teñir el ARN de las plaquetas jóvenes. De acuerdo con la intensidad de la fluorescencia se clasifican en maduras o inmaduras (10,48).

- **P-LCR:** es poco usado en hematología por desconocimiento en su aplicación, se relaciona con plaquetas de tamaño superior a 12 fl, con un valor de referencia de 10 a 30%. Es útil para el diagnóstico de trombocitopenias, trombocitosis o en casos de recuentos normales que cursan con alteraciones en la forma y tamaño de las plaquetas (48).

- **CPM:** es un indicador del grado de activación plaquetaria y una variable útil en el estudio y seguimiento de pacientes con riesgo de trombosis (48).

10. Utilidad e Interpretación Clínica del VPM en distintas patologías

El VPM refleja el tamaño promedio de las plaquetas en circulación, pretendiendo mostrar la relación entre la síntesis de plaquetas en la medula ósea y la destrucción celular. Se correlaciona con la función plaquetaria y puede ser más sensible que el recuento de plaquetas como un biomarcador en una variedad de trastornos. Se considera como un marcador sustitutivo útil de activación o reactividad plaquetaria. La utilidad clínica del VPM ha sido un tema de debate en los últimos años por lo que la

estandarización de los límites de referencia es una necesidad importante (5). Es particularmente útil en pacientes con trombocitopenia y trombocitosis (5,49).

Otro concepto que es importante incluir en la interpretación de la actividad de las plaquetas es la masa plaquetaria, que se define como la relación entre el recuento plaquetario y el VPM; a partir de la cual se ha encontrado que la relación inversa recuento plaquetario-VPM no es lineal (10,12).

En situaciones de estrés se incrementa la producción y masa plaquetaria, lo que da como resultado la liberación a la circulación de un gran número de grandes plaquetas altamente reactivas que migran a los sitios de lesión. Un estímulo intenso a nivel medular induce una hiperproducción de plaquetas que se caracterizan por presentar un VPM elevado (12). A medida que la plaqueta envejece, se pierden glicoproteínas de superficie, lo que altera de manera significativa los procesos de activación y agregación. Por otro lado, la disminución en la densidad, determinada por la pérdida de su contenido granular, reduce su función (12,13).

La disminución en el tamaño evaluado con el VPM es el resultado del consumo de plaquetas grandes y funcionales, derivando en predominio en la circulación de plaquetas más pequeñas (9,12,13).

11. Correlación entre el recuento plaquetario y VPM

Teniendo en cuenta las correlaciones entre el recuento de plaquetas y el VPM se pueden describir las siguientes situaciones:

- **trombocitosis con un VPM elevado:** se relaciona con trombopoyesis primaria o autónoma, en las que un clon neoplásico de progenitores megacariocíticos (y muchas veces también de otros linajes) es el responsable de la producción aumentada de plaquetas. Los síndromes mieloproliferativos crónicos constituyen las causas más comunes de trombocitosis crónicas primarias (Leucemia mieloide crónica, Policitemia vera, Trombocitemia escencial, Mielofibrosis idiopática con metaplasia mieloide) y también en la esplenectomía (12).

- **Trombocitosis con un VPM disminuido:** se asocia con trombocitosis reactiva, que se observa en infecciones, inflamación o malignidad (48).
- **Trombocitopenia con un VPM elevado:** se observa en la PTI, la coagulación intravascular diseminada (CID), la sepsis y la preeclampsia. También se menciona a la anomalía de May- Hegglin y los síndromes de Bernard-Soulier, Epstein, Fechtner y de las plaquetas grises (12,13).
- **Trombocitopenia con un VPM disminuido:** se ha descrito como un factor de riesgo independiente y predictor de hemorragia, evento que se puede presentar en casos de toxicidad sobre la médula ósea, anemia aplásica, anemia megaloblástica, y en el síndrome de Wiskott-Aldrich (12,13).
- **Recuento plaquetario normal con un VPM elevado:** talasemia, mielofibrosis, mielodisplasia (48).

12. Comportamiento del VPM en diversos escenarios clínicos

El VPM se está posicionando como marcador diagnóstico, pronóstico y de respuesta al tratamiento en diversos procesos clínicos que tienen como común denominador presentar un estado proinflamatorio, protrombótico o ambos (12,13,48). A continuación se describe el comportamiento del VPM en dichos escenarios.

12.1 Síndrome metabólico, obesidad y diabetes mellitus

El síndrome metabólico es una entidad clínica compleja caracterizada por obesidad, desbalance hormonal, intolerancia a la glucosa, dislipemia, disfunción endotelial, proinflamación, trombosis y aterosclerosis acelerada (12,16). La obesidad se asocia con un aumento de la activación plaquetaria (12,17,22). Los niveles circulantes de varios marcadores de activación plaquetaria, entre ellos el VPM, las micropartículas plaquetarias, metabolitos del TXA₂, selectina P soluble y CD40 L derivado de plaquetas se encuentran elevados en pacientes obesos. En estos pacientes, los cambios transcripcionales en las plaquetas activadas amplifican los

procesos inflamatorios a través de las interacciones pleiotrópicas con las células vasculares, inmunes y estromales (12,17,22).

La función plaquetaria está modulada por varios reguladores clave del peso corporal y el metabolismo. Por ejemplo, la trombosis dependiente de las plaquetas, aumenta con la leptina, la hormona de la saciedad producida principalmente por el tejido adiposo, y disminuye con la adiponectina, una adipocina sensibilizadora a la insulina producida exclusivamente por los adipocitos. Por lo tanto, la activación y agregación plaquetaria tienen un papel importante en la fisiopatología de la trombosis, en especial cuando están asociadas la hipertensión y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (4,6,12,22,48-51).

Las plaquetas de pacientes diabéticos tipo 2 son grandes e hiperactivas, muestran un aumento en la producción de especies de oxígeno reactivo endógeno y una capacidad antioxidante reducida, lo que aumenta la actividad de varias tirosinas quinasas, como la tirosina quinasa de Bruton, las quinasas MAP o proteínas de la familia SRC. El estrés oxidativo también está involucrado en la homeostasis del calcio intracelular anormal observada en las plaquetas de los diabéticos tipo 2 (50).

En pacientes con síndrome metabólico que poseen niveles de hemoglobina glicosilada A1 (HbA1c) mayores a 7%, el VPM se encuentra elevado en especial en aquellos en los que se agrava la intolerancia a la glucosa y cuando se presenta la transición a DM2. La elevación del VPM y los niveles de HbA1c mayores a 7% se correlacionan con el incremento de riesgo de trombosis e inflamación (4,16,21,50) Tabla I.

Tabla I: Valores publicados de VPM en pacientes con DM2 con diferentes niveles de HbA1c

AUTOR	DM HbA1c > 7 (fl)	no diabéticos (fl)	DM HbA1c < 7 (fl)
Kemal Turker Ululas	8,3 ± 1,3	7,1 ± 1,0	7,5 ± 1,1
Refik Demirtuncn (4)	9,0 ± 0,7	8,2 ± 0,7	8,4 ± 0,8

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Ulutas K,2014 (4).

La elevación del VPM puede considerarse como un marcador novedoso en el estudio del síndrome metabólico, ya que se correlaciona con todos los factores de

riesgo y los componentes del mismo; como la hipercolesterolemia, obesidad, esteatosis, esteatohepatitis e hipertensión arterial (4, 15,20,21,50,51). Además de ser predictor de mal pronóstico, en especial en lo referente a complicaciones como aterosclerosis, transición de intolerancia de glucosa a DM2 y disfunción endotelial (4,5,16,21,22). Un VPM aumentado en pacientes con DM2 podría asociarse con el riesgo de eventos cardiovasculares en esta población (50) Tabla II.

Tabla II: Valores publicados de VPM en pacientes con DM2

AUTOR	DM (fl)	no DM (fl)
Zuberi BF (4)	9,34	8,63
Hekimsov Z (4)	10,62 ± 1,71	9,15 ± 0,86
N.Papanas (4)	14,4 ± 2,2	7,1 ± 1,2
Navya B. N. (4)	8,83 ± 1,72	7,62 ± 0,47

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Ulutas K,2014 (4).

En los pacientes en que se encuentran bajo tratamiento y que presentan mejoría clínica, en los diferentes marcadores biológicos y factores de riesgo, se presenta una disminución progresiva del VPM, lo que refleja en un menor tamaño de las plaquetas, baja reactividad y un menor estado proinflamatorio y protrombótico (4).

12.2 Enfermedades proinflamatorias y protrombóticas

Las plaquetas son células efectoras clave para las respuestas hemostáticas e inflamatorias (19). La expresión de varios receptores de membrana en la superficie plaquetaria, media la activación, adhesión y agregación plaquetarias en los sitios de lesión vascular. La activación plaquetaria conduce a la secreción de constituyentes granulares, la liberación resultante de proteínas recién sintetizadas y la descarga de moléculas de señalización unidas a la membrana, como p-selectina, a la superficie celular. Los contenidos granulares secretados por las plaquetas activadas incluyen proteínas adhesivas, factores de crecimiento, quimioquinas y citoquinas (19,25,26). La mayoría de estos se almacenan en gránulos α y algunos, como la serotonina, se almacenan en gránulos densos (19,25,26). Muchas de estas moléculas secretadas que organizan la hemostasia y la trombosis también median la participación de las plaquetas en las respuestas inflamatorias sistémicas. Por ejemplo, los receptores

cati3nicos de la superficie de las plaquetas, tales como GPIb / IX / V, p-selectina e integrina $\alpha_{IIb} \beta_3$, que son cruciales para la hemostasia, tambi3n est3n implicados en muchas otras enfermedades inflamatorias humanas, incluida la AR, la enfermedad inflamatoria del intestino, y sepsis (1,4,6,8,19,52).

La evidencia acumulada demuestra que las plaquetas contribuyen al inicio y la propagaci3n de procesos inflamatorios locales y sist3micos. A veces, estos pueden ser regulados y aumentar las respuestas efectivas del hu3sped, mientras que, en otros entornos, la activaci3n plaquetaria, adhesi3n, agregaci3n y secreci3n plaquetaria exagerada, pueden contribuir al entorno sist3mico perjudicial y los resultados cl3nicos adversos (1,8,9,19,52-58).

La secreci3n de los contenidos de los gr3nulos de las plaquetas interviene en aspectos claves de las respuestas celulares en la inflamaci3n a trav3s de varias v3as. Estas v3as incluyen la translocaci3n de prote3nas desde el interior del gr3nulo α a la superficie de la membrana plaquetaria, as3 como la secreci3n directa de quimioquinas, citoquinas y mol3culas de se3nalizaci3n en el medio sist3mico (1,8,9,19,52-58).

Las respuestas secretoras de plaquetas, organizan la formaci3n homot3pica de agregados plaquetarios, as3 como las interacciones heterot3picas y la adhesi3n a otras c3lulas vasculares, inmunes e inflamatorias (1,2, 9,19,25,26,52,53).

En la aterosclerosis, las plaquetas activadas facilitan el reclutamiento de c3lulas inflamatorias, como los leucocitos y las c3lulas progenitoras, en 3reas del endotelio lesionado o en sitios de ruptura aguda de placa (Figura 6) a trav3s de la secreci3n de citoquinas y quimiocinas a partir de gr3nulos α (19,25,26). Por ejemplo, la translocaci3n de p-selectina desde los gr3nulos α a la superficie de las plaquetas permite que las plaquetas interact3en con PSGL-1 y se unan a las c3lulas endoteliales y los leucocitos (8).

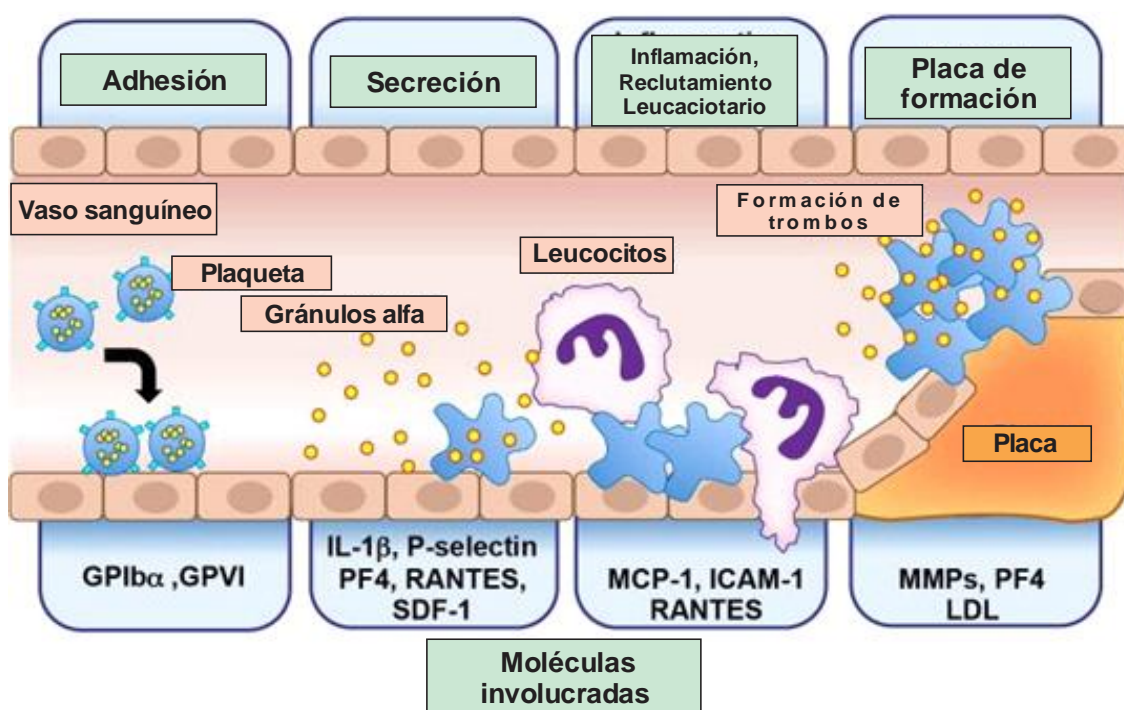


Figura 6: Secreción plaquetaria en la aterosclerosis. Las plaquetas activadas ruedan a lo largo de la monocapa endotelial a través de GPIIb / P-selectina. Posteriormente, las plaquetas se adhieren al endotelio vascular a través de integrinas β_3 , liberan compuestos proinflamatorios (IL-1 β , CD40L, Factor plaquetario 4 (PF4) y RANTES) e inducen la expresión de quimiotaxinas y moléculas de adhesión en las células endoteliales, que ayudan a reclutar leucocitos circulantes. Estos leucocitos transmigran y forman células espumosas a través de la captación de Colesterol LDL (LDL). En este y otros mecanismos, las plaquetas proporcionan la base inflamatoria para la formación de placa y la posterior trombosis en la ruptura de la placa. Modificado de Manne BK y col (8).

Si bien nuestra comprensión en Aterosclerosis con respecto a la secreción de plaquetas ha avanzado sustancialmente, quedan muchas lagunas en el conocimiento. Estos representan áreas donde la investigación futura puede ser dirigida. Por ejemplo, es probable que la investigación sostenida, en los procesos básicos que regulan la endocitosis; revele nuevos mecanismos mediante los cuales las plaquetas engullen proteínas, patógenos y otras moléculas del medio extracelular (25,26).

La endocitosis de bacterias y virus por plaquetas puede revelar información sobre el destino de estos patógenos. Conocer los mecanismos de defensa del huésped o, como se demostró recientemente para el Dengue, donde le facilita la replicación de patógenos (8,25,26).

12.3 Variaciones del VPM en Procesos Inflamatorios

En la actualidad las funciones biológicas de las plaquetas se consideran mucho más allá de la hemostasia y la trombosis. Las plaquetas también se han relacionado

con la inflamación, aterosclerosis, autoinmunidad e inmunología tumoral (19,53,54,58).

El VPM se eleva de manera significativa en enfermedades que tienen un sustrato inflamatorio, siendo un marcador de la actividad inflamatoria, evolución y respuesta al tratamiento (4, 5,7,16). Se ha demostrado que el tamaño de las plaquetas y su reactividad están relacionados con la gravedad del proceso inflamatorio dependiendo si éste es agudo o crónico (6,12-15,17,19,21,23,59,60). Entre más aguda e intensa sea la inflamación, la activación y el consumo plaquetario, el VPM disminuye aún más. En procesos más crónicos cuando la reactividad plaquetaria se estabiliza, el VPM tiende a incrementarse (12). Estas modificaciones en el VPM se han descrito en infecciones, sepsis, apendicitis aguda, lupus eritematoso sistémico (LES), AR, enfermedad de Crohn (EC), enfermedad de Behcet (EB), entre otras (12-15,17,21,23,59-63) (Figura 7).

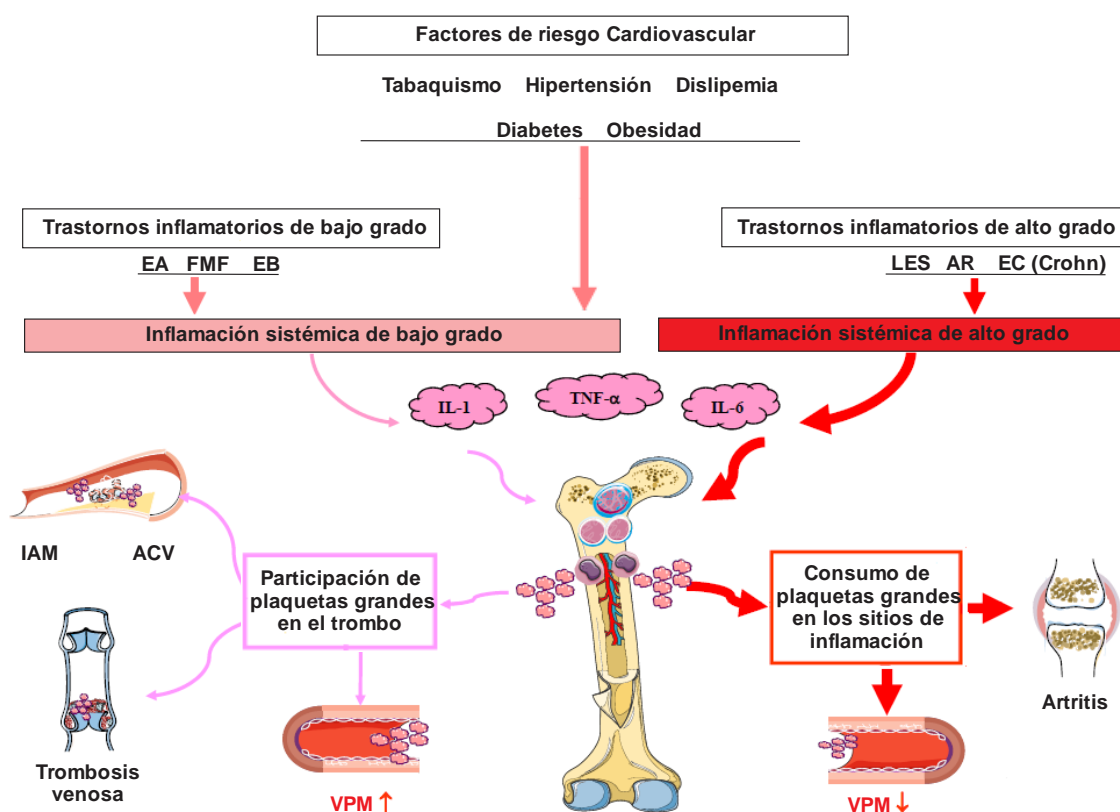


Figura 7: Posibles factores que afectan el tamaño de las plaquetas y su asociación con trombosis e inflamación. Modificado de Gasparyan y col (15). EA: espondilitis anquilosante; FMF: fiebre mediterránea familiar; EB: enfermedad de behcet; LES: lupus eritematoso sistémico; AR: artritis reumatoidea; EC: enfermedad de Crohn; IL-1: interleukina-1; TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa; IL-6: interleukina-6; IAM: infarto agudo de miocardio; ACV: accidente cerebrovascular; VPM: volumen plaquetario medio.

Es evidente que el VPM es un reflejo de los estados proinflamatorios y protrombóticos, donde la trombopoyetina y numerosas citoquinas inflamatorias (IL-1,

IL-6 y TNF α) regulan la trombopoyesis. La intensidad de la inflamación sistémica puede verse como un factor distintivo para clasificar condiciones asociadas con plaquetas circulantes grandes y pequeñas (15).

Desde este punto de vista, condiciones inflamatorias de alto grado (por ej. EC activa, AR o ataques de FMF) están asociados con la circulación de plaquetas predominantemente pequeñas, mientras que los mismos trastornos en remisión y controlado por fármacos antiinflamatorios están asociados con grandes plaquetas circulantes (15).

Factores de riesgo cardiovascular establecidos como tabaquismo, hipertensión, diabetes, así como la edad, sexo y posiblemente la etnia pueden modificar los cambios en el VPM afectando la relación inversa esperada entre el VPM y el recuento de plaquetas en la trombosis inflamatoria. Los factores fisiopatológicos específicos de la enfermedad (por ejemplo, Anticuerpos antifosfolípidos en LES o vasculitis en EB) también puede disminuir o aumentar el VPM (15,16,22).

En contraste con las condiciones donde la trombopoyesis determina a largo plazo los cambios en el VPM (por ejemplo, IAM y ACV), la liberación de plaquetas del bazo puede determinar los rápidos cambios en los valores de VPM (en minutos-horas). El rápido aumento del VPM debido a la liberación de plaquetas grandes es más probable en presencia de condiciones protrombóticas subyacentes (9,11,13,15).

El VPM tiene una correlación positiva con enfermedades en las que existe una tendencia protrombótica y que se manifiestan con trombosis a diferentes niveles, destacando los eventos vasculares cerebrales trombóticos y la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) (9,11,13,15,22).

12.4 Trastornos autoinmunes

En enfermedades autoinmunes como LES, los complejos inmunes activan las plaquetas al interactuar con los receptores de Fc; en la AR, la plaqueta es una fuente bien conocida de prostaglandinas dentro de la membrana sinovial inflamada (18,19,61).

Estudios recientes (63) correlacionaron el VPM con índices inflamatorios y de enfermedades con trastornos reumáticos. Se encontró una correlación inversa del

VPM con la velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR) en pacientes con AR y con Lupus. En líneas generales, un VPM bajo se relaciona con estados inflamatorios en un gran número de pacientes reumáticos (2). Tabla III.

Tabla III: Valores publicados de VPM en pacientes con LES

PATOLOGIA	AUTOR (15)	VALOR VPM (fl)	
LES	Delgado - Garcia G.	Activa	7,16 ± 1,39
		Inactiva	8,16 ± 1,50
	Yavuz S.	Control	6,9 ± 0,52
		Activa	9,43 ± 2,7
		Inactiva	7,47 ± 0,86
	Torres Hartmann L.	Control	10,7 ± 1,0
		Activa	10,0 ± 0,7

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Gasparyan, A. 2011 (15).

En pacientes con Síndrome antifosfolípidos (SAF) y diátesis trombótica se observa que el VPM es significativamente alto durante el evento trombótico, normalizándose alrededor de los tres meses de instaurado el tratamiento (2).

La AR es un desorden inflamatorio autoinmune que típicamente afecta las articulaciones sinoviales de las manos y pies (2,18,19). La relación entre la activación plaquetaria y la AR ha sido demostrada en diversos estudios, identificando a las micropartículas derivadas de las plaquetas (MPPs), pequeñas vesículas de membrana, como los principales mediadores involucrados en la patogénesis de este proceso (19). La inflamación crónica característica de esta patología es amplificada por las MPPs, las cuales promueven la activación de fibroblastos sinoviales en un mecanismo dependiente de IL-1 α y -1 β (19). Si bien los mecanismos que modulan la formación de MPPs en el contexto de la AR no han sido completamente elucidados, fue demostrado que las MPPs son liberadas luego de la activación plaquetaria, la cual es inducida por la interacción de la glicoproteína VI (GPVI) expresada en la superficie plaquetaria con el colágeno depositado anómalamente en los sinovios de las articulaciones (19). Estudios más recientes han demostrado que a nivel molecular, las vías de señalización gatilladas a través de la unión colágeno/GPVI involucran la activación solapada del receptor del tipo lectina C-2 (del inglés, CLEC-2) (64,65). Sin embargo, y en contraposición al rol negativo de las plaquetas en la AR, en un modelo porcino ha sido demostrado que la inyección intra-articular de plasma rico en

plaquetas atenúa la degeneración morfológica de sinovios y cartílagos característica de esta enfermedad (66). Estos datos demuestran que, aunque está claro que las plaquetas participan en la patogénesis de esta enfermedad, aún falta dilucidar cuáles son los efectos positivos y negativos de dicha contribución.

Según un informe de 2015 (67) se encontraron valores de VPM más bajos en pacientes con AR activa que inactiva. Cabe destacar que el uso de bloqueantes de TNF α promovieron un aumento significativo en los niveles de VPM después de terapia. Yazici y col. reportaron un mayor VPM en pacientes con AR que en los controles; las pruebas se correlacionan positivamente con VSG, PCR y la puntuación de la actividad del dolor de las 28 articulaciones (DAS 28). Tanto la terapia anti TNF como la terapia convencional disminuyeron el VPM y otros marcadores de inflamación. Gasparyan y colaboradores (68) utilizando un corte de 10.7 fl, documentaron valores más altos de VPM en pacientes con AR que los controles. En pacientes con AR, la hipertensión se asoció con niveles elevados de VPM, lo que sugiere que este índice plaquetario finalmente refleja un aumento del riesgo vascular (2). Tabla IV.

Tabla IV: Valores publicados de VPM en pacientes con AR

PATOLOGIA	AUTOR	VALOR VPM (fl)	
AR	Acikgoz N. (12)	Control	7,48 \pm 0,37
		AR	8,14 \pm 0,88
	Yolbas S. (68)	Control	8,8 \pm 1,5
		AR	9,2 \pm 2,2
	Gasparyan A.	Control	9,2
		AR	> 10,7
	Yazici (68)	Inicio	9,12 \pm 1,20
		Post tratamiento 3 meses	8,35 \pm 0,94
	Gasparyan A.	Inicio	7,7 \pm 0,9
		Post tratamiento 2 semanas	7,8 \pm 1,1
		Post tratamiento 12 semanas	8,8 \pm 1,1
	Vakili M. (2)	Inicio	9,2 \pm 1,1
		Post tratamiento 2 meses	8,9 \pm 1,1
	Moghimi J.	Inicio	6,75 \pm 2,08
		Post tratamiento 2 meses	6,66 \pm 2,15
		Post tratamiento 4 meses	6,65 \pm 2,19

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Gasparyan, A. 2010 (68), Carrillo-Esper R. (12), Moghimi J, 2017 (18), Schmoeller D, 2017(2).

Un estudio de 2008 representó niveles más bajos de VPM en pacientes con AR y AS con enfermedad activa en comparación con los controles. Los niveles aumentaron con el tratamiento (69). Como se ve, los datos sobre el VPM como biomarcador en pacientes adultos con AR están lejos de ser homogéneos (2). Tabla IV.

12.5 Anemia falciforme

La anemia falciforme se caracteriza por un grado variable de hemólisis y episodios intermitentes de oclusión vascular que dan como resultado isquemia tisular y disfunción crónica y aguda de los órganos (12, 69). Dolor y/o hinchazón de las manos o los pies son con frecuencia las primeras manifestaciones y usualmente tiene lugar en niños y bebés. Las consecuencias de la hemólisis incluyen anemia, ictericia, predisposición a crisis aplásica, colelitiasis y retraso en el crecimiento y la maduración sexual. La oclusión vascular y la isquemia tisular pueden generar daño crónico y agudo de virtualmente cualquier órgano del cuerpo, pero más significativamente el bazo, el cerebro, los pulmones y los riñones (69).

Todos los componentes celulares del sistema de la sangre están activados en la anemia falciforme. El VPM está aumentado en los recuentos plaquetarios de sangre periférica en estos pacientes, lo que indica que el tamaño de las plaquetas es mayor en los trastornos con aumento de la producción y/o la destrucción de las mismas, incluyendo la PTI (69).

Las crisis vaso-oclusivas y ACV son una de las principales complicaciones de la Anemia falciforme. Adicionalmente, las plaquetas activadas también pueden interactuar con los glóbulos rojos anormales que provocan la agregación y la vaso-oclusión (69). Estudios realizados indican que el VPM es uno de los predictores estadísticamente más significativos de la frecuencia de las crisis vaso-oclusivas, además de eventos cerebrovasculares en pacientes con anemia falciforme (69). El VPM puede ser un predictor de fácil acceso para el pronóstico de los pacientes con ictus isquémico agudo (12,22,69). Tabla V.

Tabla V: Valores publicados de VPM en pacientes con Anemia falciforme

PATOLOGIA	AUTOR	VALOR VPM (fl)	
ANEMIA FALCIFORME	Celik T.	Crisis vaso oclusiva presente	10,22 ± 0,95
		Crisis vaso oclusiva ausente	9,94 ± 1,04

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Celik T, .2015 (69).

12.6 Enfermedades inflamatorias e infecciosas

La intensidad de la inflamación sistémica puede ser considerada como un factor distintivo para la clasificación de las condiciones asociadas con grandes y pequeñas plaquetas circulantes (13,15,22).

Por lo tanto, el VPM es utilizado como un indicador de la función de las plaquetas para las enfermedades inflamatorias. También ha sido reconocido recientemente como un marcador inflamatorio en diversas condiciones, incluyendo la colitis ulcerosa, pancreatitis aguda y el infarto de miocardio (12,13,60).

En cuanto a la relación del VPM con los resultados para las enfermedades infecciosas algunos autores parecen estar en conflicto. Mientras que algunos estudios demostraron una correlación negativa entre la VPM y la actividad inflamatoria, otros investigadores han informado una asociación entre el aumento de VPM y gravedad de la enfermedad. Beyazit y colaboradores demostraron que el VPM disminuye en la pancreatitis aguda (70). Zubcevic y colaboradores reportaron que uno de los indicadores más fiables de la actividad de la EC fue el VPM, sin embargo, no fue lo suficientemente sensible como para distinguir la relación entre la enfermedad moderada y grave (71). Tabla VI.

Tabla VI: Valores publicados de VPM en pacientes con EC

AUTOR	Leve (fl)	Moderada (fl)	Severa (fl)
Zubcevic, N	8,6 ± 1,96	7,15 ± 0,77	7,19 ± 0,90

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Zubcevic, 2010 (71).

En las enfermedades inflamatorias crónicas, tales como la colitis ulcerosa, la fibrosis quística, la espondilitis anquilosante (EA), la AR y la fiebre mediterránea familiar (FMF), se ha descrito una disminución en los valores de VPM. Además, la disminución en los valores de VPM se asoció principalmente con la activación de la enfermedad (Tabla VII). El VPM se encuentra disminuido en la sepsis lo que sugiere una alteración de la producción de plaquetas y la actividad plaquetaria, lo que afectaría probablemente la tasa de mortalidad, mientras que se observa un aumento del VPM en las infecciones agudas del tracto urinario (2,7,19,52,57,60).

Tabla VII: Valores publicados de VPM en pacientes con EA

AUTOR	EA (fl)	Control (fl)
Zeşgin M (2)	10,1 ± 0,8	9,9 ± 0,7
Bozan M (2)	10,1 ± 0,8	9,9 ± 0,7
Resorlu H (2)	9,08 ± 1,05	8,4 ± 0,81

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Schmoeller D, 2017 (2).

Liu S y colaboradores demostraron una disminución de VPM en pacientes con EC en comparación con los controles sanos ($p < 0,0001$), pero no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre VPM y otros marcadores inflamatorios (72). Yuksel y colaboradores (73) reportaron niveles bajos de VPM en pacientes con colitis ulcerosa, postulando que el VPM puede ser utilizado, junto con otros marcadores convencionales como un indicador de la gravedad de la enfermedad (23). Tabla VIII.

Tabla VIII: Valores publicados de VPM en pacientes con EC

AUTOR	Activa (fl)	Inactiva (fl)	Control (fl)
Liu S	9,55 ± 0,17	SD	11,1 ± 0,16
Jaremo P (73)	6,71 ± 0,47	7,97 ± 0,48	7,63 ± 0,83
Yuksel O	8,06 ± 1,19	8,45 ± 0,87	8,65 ± 0,79

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Liu S. 2012 (72), Yuksel O. 2009 (73).

12.7 Sepsis

La sepsis es una afección potencialmente mortal que ocurre cuando la respuesta del cuerpo a una infección lesiona sus propios tejidos y órganos. La patogenia de la sepsis implica una serie de interacciones reguladoras complejas, con

procesos concomitantes y a menudo antagónicos, que dan como resultado una respuesta desregulada del huésped con una inflamación exagerada y una supresión inmunológica. La respuesta proinflamatoria a la sepsis conduce a la activación del sistema de coagulación con la inhibición concurrente de los mecanismos anticoagulantes y fibrinolíticos. En consecuencia, los productos fibrinolíticos y de fibrinógeno se consumen, se forman coágulos y el sangrado se manifiesta en forma de CID, resultando una mayor destrucción de plaquetas (1,19,26,52,56,57).

Probablemente el mejor ejemplo de la contribución de las plaquetas a la respuesta inflamatoria sea la sepsis y la falla multiorgánica. Durante una inflamación sistémica causada por la infección bacteriana, las plaquetas circulan expresando P-selectina en la superficie celular, evento que promueve la formación de agregados mixtos plaqueta-leucocito circulantes (19). La adhesión de las plaquetas activadas dentro de la microvasculatura, junto con la formación de agregados plaquetarios, contribuyen a la hiperpermeabilidad y a la hipoperfusión vascular observada en el transcurso de una sepsis, fenómenos que conducen a la pérdida en la integridad de la pared vascular, como así también a la oclusión de la microvasculatura que irriga a los órganos (19,26).

Por otro lado, y de manera similar a lo que ocurre en las células nucleadas, la señalización mediada por NF- κ B en plaquetas no solamente es gatillada por agonistas clásicos sino también por la unión de componentes bacterianos a los TLRs expresados en la superficie plaquetaria (19). La participación de los TLRs plaquetarios en la inmunidad innata ha sido puesta de manifiesto recientemente en el descubrimiento de las trampas extracelulares de ADN (o del inglés, NETs) derivadas del neutrófilo. Este fenómeno es un novedoso mecanismo de fagocitosis y muerte celular a través del cual los neutrófilos luego de su activación expelen al medio extracelular su contenido de ADN principalmente histonas y proteínas microbicidas que atrapan y matan a los patógenos incluyendo bacterias, hongos, parásitos y virus (19).

Como se mencionó previamente, la formación de NETs mediada por plaquetas es considerada actualmente otro mecanismo celular que contribuye a la patogénesis de esta enfermedad. Si bien las NETs juegan un rol beneficioso en sepsis favoreciendo la eliminación de patógenos (19), la producción exacerbada de las

mismas causa daño y disfunción endotelial, los cuales podrían contribuir al daño tisular durante la sepsis (19).

La inflamación se presenta en el curso de la enfermedad crítica, independientemente de su causa, la activación y consumo de plaquetas puede estar asociada a inflamación, disfunción endotelial y disfunción orgánica (1,8,19,26,56-58,74,75). En condiciones inflamatorias y trombóticas, se puede alterar el tamaño de las plaquetas, que se detecta mediante la evaluación del VPM y varía de acuerdo con el equilibrio entre la producción y la destrucción (4,6,7,12,13,19,22). En varios cuadros clínicos inflamatorios, el grado de inflamación y los cambios en VPM parecen estar correlacionados; sin embargo, el impacto de esto es controversial (75).

En un estudio prospectivo de sepsis neonatal, se concluyó que los recién nacidos sépticos tienen mayores VPM que aquellos sin sepsis, mientras que un estudio prospectivo en adultos sugirió que los volúmenes bajos de plaquetas se asocian con un peor pronóstico en adultos sépticos (3,75-77). Tabla IX.

Tabla IX: Valores publicados de VPM en pacientes con sepsis neonatal

PATOLOGIA	AUTOR	VALOR VPM (fl)	
SEPSIS NEONATAL	Catal F. (3)	Control	8,03 ± 0,3
		Sepsis día 1	10,2 ± 0,5
		Sepsis día 3	10,4 ± 0,7
		Sepsis día 7	10,3 ± 0,9
		Temprana día 1	10,6 ± 0,6
		Inicio tardío día 1	10,8 ± 0,4
		Temprana día 3	10,2 ± 1,1
		Inicio tardío día 3	10,4 ± 0,9
		Temprana día 7	10,7 ± 0,9
		Inicio tardío día 7	10,8 ± 0,8
		Sobrevivientes día 1	10,34 ± 0,2
		No sobrevivientes día 1	10,6 ± 0,2
		Sobrevivientes día 3	10,1 ± 0,8
		No sobrevivientes día 3	10,8 ± 1,4
		Sobrevivientes día 7	10,2 ± 0,9
		No sobrevivientes día 7	11,1 ± 1,1

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de I Re L.2003 (3).

Existe una fuerte correlación inversa entre el recuento de plaquetas y el VPM en individuos sanos; las tendencias en este recuento deben ser consideradas al evaluar el VPM (12,13,28). El mecanismo de alteración del sistema hemostático en la sepsis ha sido bien demostrado (19,26,74,75). Las plaquetas desempeñan un papel complejo en la sepsis. Las plaquetas activadas secretan componentes claves de la coagulación y las cascadas inflamatorias (1,3,4,15,19,26,76,77).

Algunos estudios in vitro mostraron que los productos bacterianos disminuyeron la agregación plaquetaria humana, así como la liberación de muchas sustancias que no sólo son capaces de modular su función, sino también las células alrededor de ellos (78). La relación entre la gravedad de la sepsis y trombocitopenia se ha sugerido en muchos estudios publicados (1-3,8,19,26,52-58,74,75). Aunque hay algunos estudios que evalúan las respuestas específicas de las plaquetas y el VPM a diferentes tipos de microorganismos en recién nacidos sépticos, la importancia de la cinética de plaquetas y el VPM en respuesta a diferentes tipos de microorganismos en la sepsis en adultos todavía no se ha aclarado (75).

Diversos investigadores trataron de evaluar el valor diagnóstico del VPM como indicador de infección bacteriana, como uno de los objetivos tempranos de tratamiento de la sepsis y sus complicaciones (1,75-77). Observaron un aumento en el VPM en pacientes que cuentan con diagnóstico de infección bacteriana corroborada por criterios diagnósticos de sepsis y con cultivo positivo para infección bacteriana. Los investigadores sugieren que el VPM se encuentra elevado en sujetos con sepsis, lo que puede sustituir a marcadores como la procalcitonina, en unidades donde este marcador no se encuentre disponible (75). En segundo lugar, a pesar de observar incremento desde su ingreso a la unidad de terapia intensiva, predomina el incremento a las 72 horas de ingreso en los enfermos con sepsis. Éste es uno de los primeros estudios realizados en México que apoyan el incremento del VPM como un nuevo marcador de infección bacteriana. Asociaron el incremento observado en este tipo de pacientes a que, durante la cascada de respuesta inflamatoria sistémica inducida por sepsis, las plaquetas presentan una serie de cambios que van desde un incremento en su activación hasta llegar a una fase catastrófica como la CID por sepsis donde se observa un agotamiento en la producción de plaquetas, así como mayor destrucción y consumo de las mismas (75). Tabla X.

Tabla X: Valores publicados de VPM en pacientes con sepsis

PATOLOGIA	AUTOR	VALOR VPM (fl)	
SEPSIS	Sánchez Calzada A.	Ingreso	< 7,4
		72 hs. ingreso	> 7,4
	Gao Y.3)	Sobrevivientes	10,3
		No sobrevivientes	11,2
	Becchi C.	Ingreso sobreviviente	10,54 ± 0,9
		72 hs. ingreso sobreviviente	10,20 ± 1,1
		Ingreso no sobreviviente	9,96 ± 1,7
		72 hs. ingreso no sobreviviente	10,47 ± 1,8
	Guclu E.	Control	7,1 ± 1,0
		Sepsis	7 ± 1,0
		Sepsis severa	8 ± 1,0
		Sobrevivientes	8 ± 1,0
		No sobrevivientes	7 ± 1,0

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Sanchez Calzada A. 2019 (75), Becchi C. 2006 (76), Guclu E. 2013 (74), I Re L. 2003 (3).

12.8 Cardiopatía isquémica

Los síndromes coronarios agudos (SCA) comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades arteriales que abarca desde angina de pecho inestable a infarto de miocardio transmural (14). A pesar de los notables avances en el diagnóstico de los pacientes con SCA, la identificación de la isquemia miocárdica es todavía un reto y los médicos siguen admitiendo la entrada a las Salas de Emergencia a la gran mayoría de los pacientes, a menudo por sobreestimar la probabilidad de isquemia miocárdica en pacientes de bajo riesgo (7,9,14,79).

Evidencia experimental y clínica ha demostrado que los síndromes coronarios agudos son precedidos por cambios en la ploidía de los megacariocitos y en la función y volumen plaquetarios. El VPM se eleva de manera significativa en las horas previas y en las primeras horas a partir de la instalación del SCA y del infarto agudo miocárdico (IAM) (12).

Diversos estudios han mostrado que la elevación del VPM, en especial mayor a 10.5 fl, se asocia a mayor gravedad del SCA y al incremento en complicaciones y mortalidad asociadas a IAM, trombosis de estent, alteraciones en la perfusión coronaria posterior a trombólisis y al fenómeno de no reflujo posterior a colocación de

estent. En aquellos enfermos que presentan IAM, el VPM es significativamente mayor cuando se compara con los que presentan SCA o en controles sanos. También se ha correlacionado su elevación en fibrilación auricular, tanto en enfermos diabéticos como en no diabéticos (12). Tabla XI y XII.

Tabla XI: Valores publicados de VPM en pacientes con SCA

AUTOR	SCA (fl)	Control (fl)
Chirino Navarta, D.A. (5)	11,3 ± 0,5	10,2 ± 0,4
Lippi. G.	8,0 (6,7-10,0)	7,4 (6,5-9,5)
Guvenc. TS (5)	8,75 ± 0,73	7,4 ± 0,41

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Lippi G.2016 (5).

Tabla XII: Valores publicados de VPM en pacientes con IAM

AUTOR	IAM (fl)	no IAM (fl)
Yilmaz	10,4 ± 0,6	9,41 ± 0,7
Boos	8,5 ± 1,2	7.7 ± 0.46
Avramakis	11,0 ± 1,6	9.9 ± 1.49
Khandekar	10,4 ± 1,0	9,5 ± 0,97
Kilicli-Camur	11,75 ± 1,07	11,12 ± 0,77
Mathur	9,8 ± 1,05	10,7 ± 0,97
Senaran	8,2 ± 0,8	7,2 ± 0,5
D'Erasmo	10,86 ± 1,36	8,93 ± 0,93
Hendra	10,0 ± 1,26	9,45 ± 0,98
Erne	10,9 ± 1,5	9,69 ± 1,09
Trowbridge A	7,30 ± 0,44	6,56 ± 0,68
Kishk	7,30 ± 0,84	6,70 ± 0,97
Trowbridge B	7,9 ± 0,81	71 ± 0,51
Van der Leile	6,5 ± 2,1	6,8 ± 1,86
Martin	7,6 ± 0,67	6,6 ± 0,38
Cameron	9,07 ± 0,8	8,32 ± 0,99
Overall	9,24 ± 0,84	8,48 ± 0,71

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Chu S.G. 2010 (11).

Recientemente se han publicado guías de consenso sobre una definición universal de IAM por la Federación Internacional de Bioquímica Clínica de la Sociedad

Europea de Cardiología, el Colegio Americano de Cardiología y la Asociación Americana del Corazón y la Federación Mundial del Corazón donde recomiendan las mediciones de la troponina I (TnI) y la troponina T (TnT) como los biomarcadores cardíacos bioquímicos preferidos para el diagnóstico de SCA (80). Sin embargo, la eficacia diagnóstica de las troponinas cardíacas dentro de 2 a 4 horas de la aparición de los síntomas es limitada. Por lo tanto, las pruebas bioquímicas de laboratorio no pueden ser utilizadas para reducir las entradas al servicio de emergencias, por el contrario, tienen el potencial de aumentarlas (14).

De las investigaciones realizadas se desprende que el VPM es un factor de riesgo para el IAM recurrente independiente de otros factores de riesgo establecidos como hipertensión, dislipemia, el aumento de fibrinógeno, recuento de glóbulos blancos o la viscosidad del plasma (9,12,13,14,16), por lo tanto, podemos considerar al VPM como un marcador de riesgo emergente para la aterotrombosis (3, 7, 9,11,14-16,77).

Las plaquetas desempeñan un papel crucial en la patogénesis de la aterosclerosis (4-6,7,9,17,22). La activación de las plaquetas conduce a la formación de ácido araquidónico libre, que puede ser transformado en prostaglandinas, tales como el TXA₂, uno de los vasoconstrictores más potentes y sustancias de agregación de plaquetas, o en los leucotrienos, que puede amplificar la respuesta inflamatoria. Como se mencionó anteriormente, es probable que las plaquetas más grandes, producidas a partir de megacariocitos activados en la médula ósea, sean más reactivas que las plaquetas normales (4,6,7,9,12,13,22,21,24,48). Estas plaquetas grandes e hiperactivas jugarían un rol fundamental en la aceleración de la formación y propagación del trombo intracoronario que conduce a la aparición de eventos trombóticos agudos (4,6,7,9,12,13,48,49). Estas observaciones han llevado a considerar que el aumento de VPM, puede ser un marcador potencialmente útil en la estratificación del riesgo cardiovascular (9). El aumento de los niveles de trombopoyetina puede elevar tanto los recuentos de plaquetas como el tamaño de las plaquetas, lo que resulta en plaquetas hemostáticamente más activas, que puede contribuir al desarrollo y progresión de la enfermedad de la arteria coronaria (15,20,48,49,39,82).

Otros investigadores han demostrado en pequeños estudios de observación que el VPM es mayor en los pacientes con IAM que en aquellos con angina de pecho

estable y en controles sanos, lo que sugiere que este parámetro es un marcador de riesgo de la gravedad de la enfermedad de la arteria coronaria (83-85).

Por último, se ha informado que la valoración del VPM en la admisión de pacientes podría ser valiosa en la predicción de la permeabilidad de la arteria relacionada con el infarto y en la planificación de la necesidad de terapia adyuvante para mejorar los resultados en pacientes sometidos a una intervención coronaria percutánea (9). Estos resultados proporcionan una prueba más de que la activación de las plaquetas se refleja en elevados VPM y como esto puede contribuir a la patogénesis de la trombosis relacionada con complicaciones en la enfermedad arterial coronaria, siendo de utilidad para detectar a los pacientes de alto riesgo para futuros eventos cardiovasculares (9,11,39,48,49,77,81,82).

Aunque estudios recientes demostraron una mayor actividad plaquetaria en pacientes con insuficiencia cardíaca, la evidencia actual es insuficiente para apoyar la hipótesis de que la activación plaquetaria desempeña un papel directo en la fisiología de los SCA. No está claro si el aumento de la actividad plaquetaria se relaciona con un desequilibrio sistémico o si realmente contribuye a una descompensación aguda (4,6,7). El VPM debería ser incluido dentro de los marcadores de cardiopatía isquémica, formando parte de una evaluación integral y no como marcador único (9-13).

12.9 Cáncer

Las plaquetas sirven como "primeros respondedores" durante las heridas y la homeostasis normales, inician una coagulación rápida, vasoconstricción, inflamación y la biología de la herida que conduce a la esterilización, reparación y resolución de tejidos. También se encuentran entre las primeras en detectar, fagocitar o reaccionar a los patógenos en la circulación. Estas propiedades de las plaquetas como primeros respondedores son útiles en la inflamación crónica, la progresión del cáncer y la metástasis. La génesis de los vasos sanguíneos durante la reacción inflamatoria o con fugas durante la carcinogénesis proporciona oportunidades para la invasión de plaquetas en los tumores (53).

Se piensa que el cáncer es una herida crónica o sin cicatrización que puede ser ayudada activamente por las propiedades mitogénicas de las plaquetas para estimular el crecimiento del tumor. Este crecimiento, en última instancia, supera el soporte circulatorio y conduce a la angiogénesis y la intravasación de células tumorales en el torrente sanguíneo. Las células tumorales circulantes vuelven a unir a las plaquetas adicionales, lo que facilita la adhesión de las células tumorales, la detención, extravasación y metástasis. Este proceso, junto con los estados de hipercoagulabilidad asociados con la malignidad, se amplifica por la producción de IL-6 en tumores que estimulan la producción de TPO en el hígado y eleva el número de plaquetas circulantes por trombopoyesis en la médula ósea. Estas interacciones complejas y el rol de "respuesta inmediata" de las plaquetas durante diversas situaciones de estrés fisiológico proporcionan un objetivo terapéutico útil que merece una exploración más profunda (53).

Como parte del proceso metastásico, los receptores de plaquetas reconocen complejos de receptores de células tumorales, proteínas de la matriz unidas a la superficie o productos celulares cuando invaden los vasos sanguíneos debido a las interacciones de la primera respuesta de las plaquetas -células tumorales (19,26,52-54). Las células tumorales forman extensas prolongaciones de membrana / citoesqueleto que se interdigitan en gran medida con un agregado plaquetario central e involucran la captación de fragmentos de plaquetas y mitocondrias (19,26,53). Se cree que estas interacciones dan como resultado la supresión del reconocimiento / citotoxicidad inmune o la promoción de la detención celular en el endotelio, o el atrapamiento en la microvasculatura. Todas estas respuestas apoyan la supervivencia y la propagación de las células cancerosas y el establecimiento de lesiones secundarias. Los mecanismos adicionales de la relación plaquetas-metástasis pueden incluir la producción de exosomas plaquetarios o el comportamiento migratorio extravascular de las plaquetas que ayudan a impulsar la progresión del cáncer o el pre-acondicionamiento de los sitios metastásicos secundarios (19,53,77,86).

El VPM se ha propuesto como un predictor de tromboembolismo venoso en el cáncer. Patrizia Ferroni (86) y colaboradores investigaron los efectos de diferentes fármacos contra el cáncer sobre el VPM con el fin de evaluar su posible valor en la predicción de riesgo de un primer episodio tromboembólico en pacientes ambulatorios con cáncer durante el tratamiento. Tabla XIII

Un VPM bajo previo a la quimioterapia podría considerarse como un predictor del aumento del riesgo de tromboembolismo venoso en pacientes con cáncer. La quimioterapia reduce aún más los volúmenes de plaquetas, posiblemente debido a la activación y destrucción plaquetaria inducida por fármacos. Los cambios en los VPM durante la quimioterapia pueden proporcionar información adicional sobre el riesgo tromboembólico de los pacientes tratados con medicamentos contra el cáncer, particularmente compuestos de platino (86).

Un informe reciente de investigadores del Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS) demostraron que los niveles de VPM de 10.8 fl o más (es decir, los 75th percentilo de todos los pacientes con cáncer que incluyen en su estudio) se asociaron con un riesgo significativamente menor de tromboembolismo venoso (TEV) (87), TablaXIII

Tabla XIII: valores publicados de VPM en pacientes con cáncer

PATOLOGIA	AUTOR	VALOR VPM (fl)	
CANCER	Ferroni, P.	Valor normal	6,1 - 13,0
		Antes de quimioterapia	8,6 ± 1,1
		TEV	8,2 ± 1,1
		No TEV	8,6 ± 1,1
		Pacientes que desarrollan TEV Antes de quimioterapia (14 %)	< 7,3
		Pacientes que desarrollan TEV Antes de quimioterapia (6 %)	> 7,3
		Inicio del ciclo	8,5 ± 1,2
		ciclo 2º	8,0 ± 1,0
		ciclo 6º	8,5 ± 0,9
	Mutlu, H.(86)	Inicio	9,1 ± 1,4
		TEV	8,6 ± 1,3
	CATS (87)	Control	10,2
		Paciente	10,3
		Páncreas	10,6
		Tumores sólidos	10,1
		Metástasis tumoral	10,3

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Ferroni P. 2014 (86), Riedl J. 2014 (87).

El riesgo de TEV en pacientes con cáncer es aproximadamente 4 veces mayor que en la población general, y se asocia a diversos factores de riesgo tales como el

sitio del tumor, el estadio, las comorbilidades o una variedad de variables biológicas, incluido el recuento de plaquetas. La quimioterapia, por su parte, puede actuar como un desencadenante adicional en este terreno ya fértil que contribuye a una mayor incidencia de eventos trombóticos que finalmente impactan en el tratamiento activo, la calidad de vida y la esperanza de vida. Existe poca información disponible sobre el valor del VPM en la predicción del riesgo y los datos sobre los efectos de la quimioterapia en este índice plaquetario son contradictorios. De hecho, se ha informado que el VPM aumenta después del tratamiento adyuvante con tamoxifeno en pacientes con cáncer de mama lo que llevó a algunos autores a solicitar estudios para evaluar la necesidad y el momento de los medicamentos antiplaquetarios si se encuentra un VPM elevado en pacientes tratados con tamoxifeno (86). Por otro lado, el VPM se redujo significativamente por el tratamiento antiangiogénico del cáncer de colon metastásico, un trastorno conocido por aumentar el riesgo tromboembólico (86). Tabla XIV.

Tabla XIV: valores de VPM en pacientes con diferentes tipos de tumores

PATOLOGIA	AUTOR	VALOR VPM (fl)	
	Matowicka - Kama j. (77)	Control	8,68 ± 0,64
		Temprano antes de cirugía	8,81 ± 0,64
		Temprano después de cirugía	8,92 ± 0,92
		Avanzado con metástasis en ganglios linfáticos antes de cirugía	9,48 ± 0,87
		Avanzado con metástasis en ganglios linfáticos después de cirugía	9,64 ± 0,69
		Tumor metastásico antes de cirugía	9,04 ± 0,86
		Tumor metastásico después de cirugía	9,23 ± 1,10
	Ming Shen X. (77)	Control	8,37 ± 0,78
TIROIDES	Carlioglu A. (77)	Cáncer gástrico	10,86 ± 1,06
		Cáncer micropapilar	8,75 ± 1,13
CARCINOMA HEPATOCELULAR	Kurt M. (77)	Control	8,8 (7,5 - 11,4)
		Hepatitis crónica	8,6 (7,0 - 11,0)
		Cirrosis	9,1 (7,0 - 12,1)
		Carcinoma hepatocelular	9,7 (7,9 - 14,5)
CUELLO UTERINO	Wen Jie S. (77)	Control	9,2 ± 0,9
		Cáncer cuello uterino	8,6 ± 1,3
COLORRECTAL	Tuncel T. (77)	No metástasis	7,32 ± 1,12
		Metástasis	7,89 ± 1,06
PANCREAS	Gong X. (77)	Control	9,25 ± 0,11
		Tumor benigno de páncreas	10,22 ± 0,16
		Cáncer de páncreas	10,93 ± 0,12

Fuente: Tabla de elaboración propia con datos de Korniluk A. 2019 (77).

Según la mayoría de los estudios realizados los valores bajos de VPM antes de la quimioterapia podrían considerarse un factor predictor del aumento del riesgo de TEV en pacientes con cáncer, ya que la misma reduce aún más los valores de VPM. Los cambios en el VPM durante el curso de la quimioterapia podrían proporcionar información adicional sobre el riesgo de TEV en pacientes tratados con medicamentos contra el cáncer, especialmente compuestos de platino. Sin embargo, la estandarización de la medición de VPM es necesaria antes de que se pueda incluir VPM en los protocolos de estratificación de riesgo de TEV (53,54,77,86).

13. Conclusión

Establecer una conexión entre los factores genéticos asociados al recuento plaquetario y VPM con la función biológica es vital para comprender los mecanismos plaquetarios y sus contribuciones a la salud humana.

Anteriormente el VPM sólo se utilizaba como auxiliar diagnóstico en macrotrombocitopenias congénitas poco comunes y como parte del abordaje de trombocitopenias periféricas autoinmunes.

En la actualidad varias líneas de investigación sugieren que existe una asociación significativa entre el VPM y algunas enfermedades, especialmente con trastornos cardiovasculares. Señalan al VPM como un posible marcador de riesgo útil para la predicción de tromboembolismo pulmonar y otros tipos de trombosis; observando valores elevados en los pacientes con obesidad, tabaquismo, hipertensión arterial sistémica, e hiperlipidemia.

Se observó un aumento de VPM en enfermedades cardiovasculares, accidente cerebrovascular cerebral, enfermedades respiratorias, insuficiencia renal crónica, enfermedades intestinales, enfermedades reumatoides, diabetes y varios tipos de cáncer. Se observó una disminución del VPM en la Enfermedad de Crohn, LES en adultos y diferentes enfermedades neoplásicas.

El VPM depende de una serie de variables, incluido el tiempo de análisis después de la punción venosa, la metodología empleada, el anticoagulante utilizado y la temperatura de almacenamiento de la muestra. La influencia de estas variables es significativa, por lo tanto, la implementación de controles de calidad internos y externos por parte de cada laboratorio es de suma importancia a la hora de determinar y estandarizar valores de referencia.

Cuando se logren alcanzar las metas de estandarización, se podrán demostrar las variaciones en el volumen de plaquetas en varios estados patológicos y así aumentar su utilidad en la práctica clínica. La estandarización es particularmente importante a la hora de buscar pequeñas diferencias, como las que ocurren durante el infarto agudo de miocardio u otros eventos trombóticos, que reflejan la gravedad del

daño vascular y que pueden tener importancia pronóstica. La evaluación del tamaño de las plaquetas podría ser considerado una herramienta valiosa para el diagnóstico, evaluación y monitorización terapéutica de un amplio espectro de enfermedades venosas y arteriales.

Por lo tanto, desde el punto de vista clínico, sería interesante establecer un valor de referencia de VPM que indique tanto la intensidad del proceso inflamatorio, la presencia de la enfermedad, respuesta del paciente al tratamiento aplicado, como así también un mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad, de complicaciones trombóticas y de muerte.

14. Bibliografía

1. Dewitte A, Lepreux S, Villeneuve J, Rigothier C, Combe C, Ouattara A, & Ripoche J. Blood platelets and sepsis pathophysiology: A new therapeutic prospect in critical ill patients? *Annals of intensive care*. 2017;7(1):115.
2. Schmoeller D, Picarelli MM, Paz Munhoz T, Poli de Figueiredo CE, Staub HL. Mean platelet volume and immature platelet fraction in autoimmune disorders. *Frontiers in medicine*. 2017; 4:146.
3. I Re L, Jae LL S, Se Jin P, Ji Young O, Ji Hong K. Mean platelet volume in young children with urinary tract infection. *Scientific Reports*. 2015; 5:18072.
4. Ulutas, K.T., Dokuyucu, R., Sefil, F., Yengil, E., Sumbul, A.T., Rizaoglu, H., Ustun, I., Yula, E., Sabuncu, T., & Gokce, C. Evaluation of mean platelet volume in patients with type 2 diabetes mellitus and blood glucose regulation: a marker for atherosclerosis? *International journal of clinical and experimental medicine*. 2014; 7(4): 955-61.
5. Lippi G. Genetic and nongenetic determinants of mean platelet volume. *Blood*. 2016; 127(2):179-180.
6. Lanzó MD, Matthijs Sloep MD, Henskens YMC, Marco AEM. Mean platelet volume as a diagnostic marker for cardiovascular disease. Drawbacks of Preanalytical Conditions and Measuring Techniques. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2012; 18(6):561-568.
7. Jackson SP, Nesbitt WS, Westein E. Dynamics of platelet thrombus formation. *Journal of Thrombosis and Hemostasis*. 2009; 7(1):17-20.
8. Manne BK, Xiang SC, Rondina MT. Platelet secretion in inflammatory and infectious diseases. *General Internal Medicine*. 2017; 28(2):155-164.
9. Pabon Ursuna P, Nieto Ballesteros F, Sánchez Fernandez P, Arribas Jimenez A, Diego Dominguez M, Martin Luengo C. Influencia del volumen plaquetario medio sobre el pronóstico a corto plazo del infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 1998; 51:816-22.
10. López-Jiménez, R. A., Martín-Herrero, F., González-Porras, J. R., Sánchez-Barba, M., Martín-Luengo, C., & Pabón-Osuna, P. Fracción de plaquetas inmaduras, un nuevo marcador pronóstico en el síndrome coronario agudo. *Revista Española de Cardiología*. 2013; 66(2):147 – 148.
11. Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Elikboom JW, Konkle B, Mohler ER, Reilly MP, Berger JS. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular

- risk: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2010;8(1):148-156.
12. Carrillo-Esper R, Carrillo- Cordova D, Carrillo- Cordova C, Carrillo- Cordova L. Volumen plaquetario medio. Su significado en la práctica clínica. *Rev Invest Med Sur Mex*, 2013; 20(1):17-20. Review.
 13. Gutierrez-Romero A, Gutierrez-Grobe Y, Carrillo –Esper R. Volumen plaquetario medio: El tamaño sí importa. *Med Int Mex* 2013; 29:307-310. Review.
 14. Lippi G, Filippozzi L, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC, and Targher G. Increased mean platelet volume in patients with acute coronary syndromes. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*: September 2009,133 (9):1441-1443
 15. Gasparyan A, Ayvazyan L, Mikhailidis D, Kitis G. Mean Platelet Volume: A link between thrombosis and inflammation? *Current Pharmaceutical Design* 2011; 17(1):47-58.
 16. Icli A, Aksoy F, Nar G, Kaymaz H, Alpay MF, Nar R, Guclu A, Arslan A, Dogan A. Increased mean platelet volume in familial hypercholesterolemia. *Angiology* 2015 Apr 9. Versión on line.
 17. Samad F, Ruf W. Inflammation, obesity and thrombosis. *Blood*. 2013; 122(20):3415-3422. Review.
 18. Moghimi J, Gharemanfard F, Salari M, Ghorbani R. Association between mean platelet volume and severity of rheumatoid arthritis. *Pan African Medical Journal*.2017; 27:276.
 19. Etulain, Julia; Schattner, Mirta Ana; Rol de las plaquetas en la inflamación; Academia Nacional de Medicina; Boletín de la Academia Nacional de Medicina; 2014; 92(2):319-329.
 20. González – Villalva AE, Falcón Rodríguez CI, Fortoul-van der Goes TL. Vías de señalización implicadas en la megacariopoyesis. *Gac Med Mex*. 2010; 146(2):136-143.
 21. García Mesa M, Coma Alfonso C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev. Cubana. Angiol y Cir Vasc*. 2000; 1(2):132-41.
 22. Farré, A, Macaya C. “Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición.” *Revista española de cardiología*.2013; 13:2-7.

23. Salto AB, Fontana S, Marquesoni E, Casale MF. Valoración de los Índices plaquetarios en las trombocitopenias. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 2012; 46(1):23-30.
24. Sharathkumar AA, Shapiro AD. Trastornos de la función plaquetaria. Federación Internacional de Hemofilia. Québec. 2ª. ed. 2008. Versión on line.
25. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood*. 2009; 23(4):177-189.
26. Lam FW, Fijayan VK, Rumbaut RE. Platelets and Their Interactions with Other Immune Cells. *Compr Physiol*. 2015; 5(3):1265-1280.
27. Eicher JD, Lettre G & Johnson AD. The genetics of platelet count and volume in humans. *Platelets*. 2017; 10:1369-1635
28. Meisinger C, Prokisch H, Gieger C, et al. A genome-wide association study identifies three loci associated with mean platelet volume. *Am J Hum Genet*. 2009 Jan; 84(1):66-71.
29. Wang W, Gilligan DM, Dom S, Wu X, Reems J. Distinct Functional Effects for Dynamin 3 During Megakaryocytopoiesis. *Stem Cells and Development*. 2011; 20(12):2139-2151
30. Astle WJ, Elding H, Jiang T, et al. The allelic landscape of human blood cell trait variation and links to common complex disease. *Cell*. 2016; 167:1415–1429.
31. Sansanayudh N, Anothaisintawee T, Muntham D, et al. Mean platelet volume and coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2014; 175:433–440.
32. Sansanayudh N, Numthavaj P, Muntham D, et al. Prognostic effect of mean platelet volume in patients with coronary artery disease. a systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost*. 2015; 114:1299–1309.
33. Soranzo N, Rendon A, Gieger C, Jones CI, Watkins NA, Menzel S et al. A novel variant on chromosome 7q22.3 associated with mean platelet volumen, counts, and function. *Blood*. 2009; 113(16):3831-7.
34. Nurnberg ST, Rendon A, Smethurst PA, et al. A GWAS sequence variant for platelet volumen marks an alternative DNMT3 promoter in megakaryocytes near a MEIS1 binding site. *Blood*. 2012; 120(24):4859-4868.
35. Reems, J et al. Dynamin 3 participates in the growth and development of megakaryocytes. *Experimental Hematology*. 2008; 36(12):1714-1727.

36. Erro M., Lanari E. Prevalencia y caracterización de trombocitopenia en el embarazo: experiencia en el Hospital "José R. Vidal" de Corrientes. *Rev. Fac. Med. UNNE* 2016; 36:30–40
37. Sujeros G, Pieri E, Orsilles M. Efectos de los distintos anticoagulantes sobre los índices plaquetarios. *Hematología*. 2000; 4(1):22-26.
38. Harrison P, Horton A, Grant D, Briggs C, MacHin S. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. *Br J Haematol*. 2000; 108(2):228–235.
39. Mirzale AZ, Abohasani M, Ahmadinejad B, Panahi M. Platelet count and MPV, routinely measure but ignored parameters in conjunction with the diagnosis of acute coronary síndrome: single estudy center in Iranian population. *Medical Journal of Islamic Republic of Iran*. 2012; 26(1):17-21.
40. Trowbridge EA, Reardon DM, Hutchinson D, Pickering C. The routine measurement of platelet volume: a comparison of light-scattering and aperture-impedance technologies. *Clin Phys Physiol Meas*. 1985; 6(3):221–238.
41. Thompson CB, Diaz DD, Quinn PG, Lapins M, Kurtz SR, Valeri CR. The role of anticoagulation in the measurement of platelet volumes. *Am J Clin Pathol*. 1983; 80(3):327–332.
42. Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for Ethylenediaminetetraacetic Acid Anticoagulation of Blood for Blood Cell Counting and Sizing. International Council for Standardization in Haematology: Expert Panel on Cytometry. *Am J Clin Pathol*. 1993; 100(4):371–372.
43. Dastjerd MS, Emami T, Najafian A, Amini M. Mean platelet volume measurement, EDTA or citrate? *Hematology*. 2006; 11(5):317–319.
44. Diaz-Ricart M, Brunso L, Pino M. Preanalytical treatment of EDTA-anticoagulated blood to ensure stabilization of the mean platelet volume and component measured with the ADVIA counters. *Thromb Res*. 2010; 126(1):30–35.
45. Threatte, GA, Adrados, C, Ebbe, S, Brecher, G. Mean platelet volume: the need for a reference method. *Am J Clin Pathol*. 1984; 81(6):769–772.
46. Harrison P, Horton A, Grant D, Briggs C, MacHin S. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. *Br J Haematol*. 2000; 108(2):228–235.
47. Lippi G, Pavesi F, Pipitone S. Evaluation of mean platelet volumen with four hematological analysers: harmonization is still an unresolved issue. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 2015; 26(2):235-237

48. Hernández Reyes L. H. Avances y aplicación clínica de la citometría hemática automatizada. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013; 29(1):24-39.
49. Noris P, Melazzini F & Balduini CL. New roles for mean platelet volume measurement in the clinical practice? 2016; 27:602-612.
50. Bye AP, Unsworth AJ & Gibbins JM. Platelet signaling: a complex interplay between inhibitory and activatory networks. *J Thromb Haemost*. 2016; 14(5):918-930.
51. Ucar H, Gur M, Gozukara MY, Kivrak A, Kolcu Z, Akiol S, Kaypakli O, et al. Relationship between mean platelet volume and morning blood pressure surge in newly diagnosed hypertensive patients. *Anatol J Cardiol*. 2015; 15(2):107-112.
52. Cognasse HH, Damien P, Chabert A, Pozzetto B, Cognasse F, Garraud O. Platelets and infections – complex interactions with bacteria. *Front Immunol*. 2015; 6:82.
53. Menter DG, Copetz S, Hawk E, Sood A, Loree JM, Gresele P, et al. Platelet “first responders” in wound response, cancer, and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2017; 36(2):199-213.
54. Franco AT, Corken A, Ware J. Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood*. 2015; 126(5):582-588.
55. Schmoeller D, Picarelli MM, Paz Munhoz T, Poli de Figueiredo CE, Staub HL. Mean platelet Volume and Immature Platelet Fraction in Autoimmune Disorders. *Front Med (Lausanne)*. 2017; 4:146.
56. Ates S, Oksuz H, Dogu B, Bozkus F, Ucmak H, Yanit F. Can mean platelet volume and mean platelet volume/platelet count ratio be used as a diagnostic marker for sepsis and systemic inflammatory response syndrome? *Saudi Med J*. 2015; 36(10):1186-1190.
57. Rainger GE, Chimen M, Harrison MJ, Yates CM, Harrison P, Watson SP, et al. The role of platelets in the recruitment of leukocytes during vascular disease. *Platelets*. 2015; 26(6):507-520.
58. Bijak M, Dzieciol M, Rywaniak J and Zielinska M. Platelets miRNA is a prediction marker of thrombotic episodes. *Disease Markers*
59. Güvenç TS, Hasdemir H, Erer HB, İlhan E, Özcan KS, Çalık NA, Çetin R, Eren M. Lower than Normal Mean Platelets Volume is Associated with Reduced Extent of Coronary Artery Disease. *Arq Bras Cardiol*. 2013; 100(3):255-260.

60. Karaman H, Karakuku C, Kocer D. Can mean platelet volumen serve as a marker for prostatitis? *Int J Med Sci.* 2013; 10(10):1387-1391.
61. Balbaloglu O, Korkmaz M, Yolcu S, Karaaslan F, Celtin Beceren NG. Evaluation of mean platelet volumen (MPV) levels in patients with sinovitis associated with knee osteoarthritis. *Platelets.* 2014; 25(2):81-85.
62. Kucuk E, Kucuk I. Mean Platelet Volume is Reduced in Acute Appendicitis. *Turk J Emerg Med.* 2015; 15(1):23-27.
63. Şahin A, Yetişgin A, Şahin M, Durmaz Y, Cengiz A. Can mean platelet volume be a surrogate marker of inflammation in rheumatic diseases? *West Indian Med J.* 2015; 65(1):165–169.
64. Hsu, J., et al. Bruton's Tyrosine Kinase mediates platelet receptor-induced generation of microparticles: a potential mechanism for amplification of inflammatory responses in rheumatoid arthritis synovial joints. *Immunol Lett.* 2013; 150(1-2):97-104.
65. Gitz, E., et al. CLEC-2 expression is maintained on activated platelets and on platelet microparticles. *Blood.* 2014; 124(14):2262-2270.
66. Lippross, S., et al. Intraarticular injection of platelet-rich plasma reduces inflammation in a pig model of rheumatoid arthritis of the knee joint. *Arthritis Rheum.* 2011; 63(11):3344-3353.
67. Tekeoğlu İ, Gürol G, Harman H, Karakeçe E, Çiftçi İH. Overlooked hematological markers of disease activity in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2016; 19(11):1078–82.
68. Gasparyan AY, Stavropoulos-Kalinoglou A, Toms TE, Douglas KMJ, Kitas GD. Association of mean platelet volume with hypertension in rheumatoid arthritis. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2010; 9(1):45–50.
69. Celik T, Unal S, Ekinci O, Ozer C, Ilhan G, Oktay G, et al. Mean platelet volume can predict cerebrovascular events in patients with Sick Cell Anemia. *Pak J Med Sci.* 2015; 31(1):203-208.
70. Beyazit Y, et al. Mean platelet volumen is an indicator of the disease in patients with acute pancreatitis. *Clinical Res Hepatol Gastroenterol.* 2012; 36(2):162-168.
71. Zubcevic N, Mesihovic R, Zubcevic S. Utility of laboratory data to estimate the activity of Crohn's disease. *Med Arh.* 2010; 64(1):33-36.

72. Liu S, Ren J, Han G, Wang G, Gu G, Xia Q, Li J. Mean platelet volumen: a controversial marker of the disease in Crohn's disease activity. *Eur J Med Res.* 2012; 17(1):27.
73. Yuksel O, Helvacı K, Başar O. et al. A flag overlooked the disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets.* 2009; 20(4):277-281.
74. Guclu E, Durmaz Y, Karabay O. Effect of severe sepsis on platelet caunt and their indices. *Afr Health Sci.* 2013; 13(2):333-338.
75. Sanchez Calzada A, Navarro Adame JL, Yunuem Delgado Ayala M, Torres Agular O, Granillo JF, Aguirrez Sanchez J, et al. Utilidad del volumen plaquetario medio para descartar sepsis. *Red Asoc Mex Med Crit Ter Int.* 2016; 30(2):87-94.
76. Becchi C, Al Malyan M, Fabbri LP, Marsili M, Boddi V, Boncinelli S. Mean platelet volume trend in sepsis: is it a useful parameter? *Minerva Anesthesiol.* 2006; 72(9):749-756.
77. Korniluk A., Koper-Lenkiewicz O. M., Kaminska, et al. Mean Platelet Volume (MVP): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators of Inflammation*, vol. 2019, 14 pages, 2019
78. Semple JW, Freedman J. Platelets and innate immunity. *Cell Mol Life Sci.* 2010; 67:499-511.
79. Balta S, Demirkol S, Unlu M, Arslan Z. Current Opinion: Mean Platelet Volume Is One of Most Important Parameters at the First Glance. *Med Princ Pract.* 2014; 23:189-190.
80. Coll-Muñoz Y, Valladares-Carvajal F, González-Rodríguez C. Infarto agudo de miocardio. Actualización de la Guía de Práctica Clínica. *Revista Finlay [revista en Internet].* 2016 [citado 2018 Dic 5]; 6(2):
81. Mirzale AZ, Abohasani M, Ahmadinejad B, Panahi M. Platelet count and MPV, routinely measure but ignored parameters in conjunction with the diagnosis of acute coronary síndrome: single estudy center in Iranian population. *Medical Journal of Islamic Republic of Iran.* 2012; 26(1):17-21.
82. Khode V, Sindhur J, Kanbur D, Ruikar K, Nallulvar S. Mean platelet volume and other platelet indices in patients with stable coronary artery disease and acute myocardial infarction: A case control study. *J Cardiovasc Dis Res.* 2012; 3:272-275.
83. Martin JF, Plum J, Kilbey RS, Kishk YT. Changes in volume and density of platelets in myocardial infarction. *Br Med J.* 1983; 287:456-459.

84. Cameron HA, Philipps R, Ibbotson RM, Carson PHM. Platelet size in myocardial infarction. *Br Med J*. 1983; 287:449-451.
85. Trowbridge EA, Martin JF. The platelet volume distribution: ¿a signature of the prethrombotic state in coronary heart disease? *Thromb Haemostas*. 1987; 58:714-717.
86. Ferroni P, Guadagni F, Riondino S, Portarena I, Mariotti S, La Farina S, et al. Evaluation of mean platelet volumen as a predictive marker for cáncer-associated venous thromboembolism during chemotherapy. *Haematologica*. 2014; 99(10):1638-1644.
87. Riedl J, Kaider A, Reitter EM, Marosi C, Jäger U, Schwarzingger I, et al. Association of mean platelet volume with risk of venous thromboembolism and mortality in patients with cancer. Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Thromb Haemost*. 2014;111(4):670-678.

